

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931.

N° 7.

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

SUR

le tapis staminal et sur les éléments polliniques
chez les Angiospermes



THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le *mars* 1931

PAR

Robert THOMAS

PHARMACIEN

INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS



JURY { MM. GUÉRIN, Président.
HÉRISSEY, Professeur.
MASCRE, Agrégé.



LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1931

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931.

N° 7.

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

SUR

le tapis staminal et sur les éléments polliniques
chez les Angiospermes



THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le

19

PAR

Robert THOMAS

PHARMACIEN

INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS

JURY { MM. GUÉRIN, Président.
HÉRISSEY, Professeur.
MASCRÉ, Agrégé.



LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1931

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *, I.
 PERROT, Assesseur, O. *, I.
 G. DURSANT, Secrétaire, *, I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. *, I.	Cryptogamie et Micro- biologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *, I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. *, I.	Zoologie.
LEBEAU, O. *, I.	Pharmacie chimique.
GUERBET, *, I.	Toxicologie.
BOUGAULT, *, I.	Chimie analytique.
GORIS, *, I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *, I.	Botanique générale.
TASSILLY, *, I.	Physique.
DAMIENS, *, I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *, I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, I.	Hydrologie et Hygiène.

Professeurs honoraires : MM. A. VILLIERS, *, I., GRIMBERT, *, I. et
 DELÉPINE, O. *, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, *, I.	Cryptogamie.
LAUNOY, O. *, I.	Pharmacodynamie.
FABRE, I.	Minéralogie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. LUTZ, *, I.	MM. PICON, I.	MM. BACH, I.
LAUNOY, O. *, I.	FABRE, I.	BEDEL, A.
DELABY, *, I.	MASCRÉ, I.	RÉGNIER, A.
	FLEURY, I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, A., agrégé, chargé des T. P. de 1 ^{re} année	Chimie générale.
FABRE, I., et RÉGNIER, A., agrégés, chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, I.	Micrographie
LEROUX, I.	Physique.
DEVAL, I.	Microbiologie.
DELABY, *, I., PICON, I. et FLEURY, I. agrégés, chargés des Travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, I.



A MON PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. GUÉRIN,
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS,
PROFESSEUR A L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE.
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage respectueux et reconnaissant.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. HÉRISSEY,

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS,
PHARMACIEN DES HÔPITAUX,
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

En témoignage de respectueux dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. MASCRÉ,
PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS,
PHARMACIEN DES HOPITAUX.

En hommage de vive gratitude

INTRODUCTION.

Nous nous sommes proposé, dans ce travail, d'étudier l'évolution cytologique de l'assise nourricière des grains de pollen, ou tapis, et des éléments polliniques eux-mêmes. On sait combien sont nombreux les travaux qui se rapportent à l'évolution de l'étamine et dont la grande majorité ont été consacrés à l'étude des cinèses de maturation. C'est plus particulièrement à l'étude du chondriome dans les éléments cités que nous nous sommes attaché. Nous nous sommes adressé à des représentants de familles très diverses, afin de vérifier si les résultats acquis par les auteurs qui nous ont précédé avaient une valeur générale pour toutes les Angiospermes.

M. le Professeur GUÉRIN a bien voulu nous admettre dans son laboratoire et s'intéresser à notre étude ; nous le remercions très respectueusement de son accueil bienveillant et de l'intérêt qu'il a pris à notre travail.

M. le Professeur HÉRISSEY, dont nous avons été l'Interne pendant plusieurs années, a bien voulu nous faire l'honneur de faire partie du jury de notre thèse. Nous l'en remercions respectueusement ainsi que de la sympathie qu'il a bien voulu nous témoigner au cours de notre internat.

M. le Professeur agrégé MASCRÉ nous a indiqué le sujet de ce travail et nous a constamment guidé au cours de nos recherches. Nous l'assurons ici de notre vive gratitude.

*
* *

Les premiers travaux sur le développement de l'étamine sont ceux de NÆGELI (1842) [38], de HÖFMEISTER [18] et surtout de WARMING [54], qui, le premier, a montré avec quelque précision l'origine des divers tissus de l'anthère. Cependant, c'est CHATIN [4], qui, le premier, a constaté (1870) l'existence constante de l'« assise nourricière ». Il a montré, chez un grand nombre de plantes, que ses cellules atteignent leur développement maximum au moment de la séparation des grains de pollen pour disparaître ultérieurement de façon plus ou moins précoce et plus ou moins complète. Cette assise, qu'il appelle simplement la « troisième membrane de l'anthère » est, dit-il, « la nourrice du pollen et sans doute aussi le réservoir où les cellules de la seconde membrane (assise mécanique) puisent les éléments de leur rapide transformation ».

On a remarqué depuis longtemps (GUIGNARD, STRASBURGER, etc...) que les cellules nourricières, au maximum de leur développement, sont multinucléées. BONNET [2], en 1912, a étudié longuement l'évolution nucléaire et mis en évidence l'existence de fusions ultérieures entre ces noyaux. Le fait a été confirmé par MASCRÉ [29]. Sur le détail de ces phénomènes nous reviendrons au cours de notre étude.

Les cellules nourricières adultes sont également caractérisées par l'existence de vacuoles très développées au sein du cytoplasme.

Il existe à ce moment, dans la cellule, un chondriome bien différencié, représenté par des mitochondries, des battonnets courts et des chondriocotes plus ou moins allongés.

Après la formation des tétrades, le tapis commence à dégénérer. Il y a modification profonde de l'aspect du cytoplasme et du chondriome ; les noyaux disparaissent par des processus divers, généralement par caryolyse, mais il est important de remarquer que, à l'exception des végétaux chez lesquels il y a lieu d'admettre l'existence d'un tapis du type dit plasmodial, si le tapis se dissocie, du moins les parois des cellules persistent et souvent même s'épaississent et se cutinisent.

On peut donc considérer dans l'évolution de l'assise nourricière ou tapis les trois phases suivantes : phase de différenciation, état adulte et phase de dégénérescence, et ces trois phases correspondent chacune à une phase particulière de l'évolution des éléments polliniques.

Nous nous bornons ici à ce très bref résumé, nous réservant de revenir plus longuement dans nos conclusions, sur l'exposé des phénomènes.

De même nous ne rappelons que brièvement ici ce que l'on sait de l'évolution du chondriome au cours du développement des éléments polliniques, principalement d'après les travaux de WAGNER [52]. D'après cet auteur, les cellules mères polliniques renferment un chondriome identique à celui des cellules végétatives voisines : grains et chondriocotes. Dans les cellules mères primordiales, on observe au début des divisions une fragmentation des chondriocotes en mitochondries creuses. Dans le jeune

grain de pollen, réapparaissent de nouveaux chondriocôntes. Les éléments mitochondriaux forment chez les Dicotylédones, à la prophase de la première division, un manteau chondriosomique et parfois, à l'anaphase et à la télophase, une plaque chondriosomique.

L'exposé de nos recherches comprendra les chapitres suivants :

Chapitre I. — Technique.

Chapitre II. — Description des faits observés.

Chapitre III. — Discussion des observations.

Chapitre IV. — Conclusions générales.

CHAPITRE PREMIER.

Technique.

Une étude comme celle que nous avons entreprise exige l'emploi simultané de plusieurs fixateurs et la comparaison des résultats obtenus.

Le liquide classique de FLEMMING nous a, comme toujours, donné les meilleurs résultats comme fixateur nucléaire. Les coupes obtenues à partir des pièces fixées au Flemming ont été colorées, au moyen de la méthode à l'hématoxyline d'HEIDENHAIN, soit directement, soit après un traitement à l'eau oxygénée destiné à éliminer l'osmium réduit au niveau des inclusions graisseuses. Nous avons également coloré ces coupes par la safranine et le vert LUMIÈRE, méthode qui permet, en même temps que l'étude de la structure nucléaire, l'observation des inclusions graisseuses, particulièrement intéressantes dans le tapis staminal.

Nous avons quelquefois employé comme fixateur le liquide de TELLYESNICZKY (solution de bichromate de potasse à 3 p. 100 additionnée de 5 p. 100 d'acide acétique). Cette méthode donne d'excellentes fixations du noyau.

Aucun des deux fixateurs précédents ne permet l'étude du chondriome qu'ils détruisent, quoique le liquide de

TELLYESNICZKY respecte parfois, mais irrégulièrement, le chondriome. Les plastes, après l'emploi de ces deux réactifs, sont toujours bien fixés. Nous avons eu recours, pour la fixation du chondriome, au liquide de MEVES DUESBERG, au formol neutralisé et au formol additionné d'acide trichloracétique. Le liquide de MEVES DUESBERG, solution de FLEMMING faible, très pauvre en acide acétique (1) n'est pas toujours très fidèle.

Le formol neutralisé est, comme on le sait, un excellent fixateur du chondriome. Nous l'avons employé suivant la technique de REGAUD : fixation de trois à cinq jours dans le formol neutralisé (2) (formol commercial 20, eau distillée 80), suivi d'un séjour de quinze jours environ dans le bichromate de potasse à 3 p. 100. La coloration se fait à l'hématoxyline : traitement de deux à trois jours par l'alun de fer à 5 p. 100, lavage, traitement de 5 à 6 jours par l'hématoxyline et différenciation par l'alun de fer. Cette méthode nous a donné toute satisfaction (3).

Nous avons employé également la fixation par le mélange suivant :

Formol neutralisé.....	20
Acide trichloracétique.....	2
Eau distillée.....	80

Après quatre à cinq jours, les pièces sont traitées par le bichromate de potasse et la coloration se fait comme

(1)	Acide chromique à 1 p. 100	15 cm ³
	— osmique à 2 p. 100	4 —
	— acétique.....	IV gouttes.

(2) Le formol commercial est toujours acide ; il faut neutraliser cette acidité, qui altère le chondriome. Il suffit, pour cela, d'agiter le formol avec un excès de carbonate de chaux.

(3) Dans sa thèse, MASCRÉ dit avoir obtenu « des résultats inconstants et généralement mauvais pour le tapis » en ce qui concerne la fixation du chondriome. Il est probable que ces succès étaient dûs à l'emploi d'un formol trop concentré (solution de formol au tiers ou au demi) ; l'auteur, dans des recherches ultérieures, et nous-mêmes, au cours de ce travail, ayant toujours eu de bons résultats avec le formol neutralisé dilué au cinquième.

après la fixation par le formol neutre. Nous avons employé ce liquide à la suite des indications de MASCRÉ [33] qui en a obtenu de très bons résultats dans la fixation du chondriome.

Il est à noter qu'après l'emploi de ce liquide la durée de la postchromisation peut être très réduite. Dans tous les cas que nous avons étudiés, nous n'avons pu constater de différence entre le chondriome ainsi fixé et le chondriome fixé par le formol seul (1). Cependant, ce liquide présente un inconvénient par rapport au formol neutre en ce qui concerne la fixation du protoplasme. Celui-ci prend un aspect plus ou moins granuleux et les vacuoles sont beaucoup moins nettes qu'après fixation au formol.

Rappelons ici que l'action du formol sur les noyaux au repos donne de la structure nucléaire une image très différente de celle que donne le liquide de FLEMMING, comme l'ont montré d'une part NOËL et MANGENOT [40] et d'autre part MASCRÉ [34]. Tandis qu'après fixation par les liquides de FLEMMING ou de TELLYESNICZKY, on observe dans le noyau un réseau achromatique sur le trajet duquel se trouvent placées les masses chromatiques, après fixation par le formol ou le mélange formol plus acide trichloracétique, on observe dans la cavité nucléaire : soit un ensemble de granulations distinctes plus ou moins serrées, soit parfois un précipité très serré, très finement granuleux, presque homogène.

(1) L'emploi du formol trichloracétique pour la fixation du chondriome nous a toujours donné, comme à MASCRÉ, de très bons résultats. Nous devons signaler à ce propos que MILOVIDOV n'a pu obtenir, dans ces conditions, la fixation du chondriome des *Saprolegnia* [37]. MASCRÉ nous a confirmé l'exactitude de cette observation et lui-même n'a pu obtenir la fixation du chondriome de ce champignon par le formol en présence des divers acides acétiques substitués. On doit expliquer certainement cette différence de comportement vis-à-vis des mêmes fixateurs, comme l'a supposé MILOVIDOV lui-même, par une différence de composition chimique des éléments du chondriome chez les espèces étudiées.

Au cours de notre travail, on verra dans quelles conditions nous avons employé parfois le liquide « Nadi » pour la caractérisation des graisses, l'acide sulfurique pour la mise en évidence des pigments carotinoïdes, le violet cristal ou la safranine pour l'étude de ponctuations de la membrane chez les cellules nourricières.

CHAPITRE II.

Hemerocallis flava L.

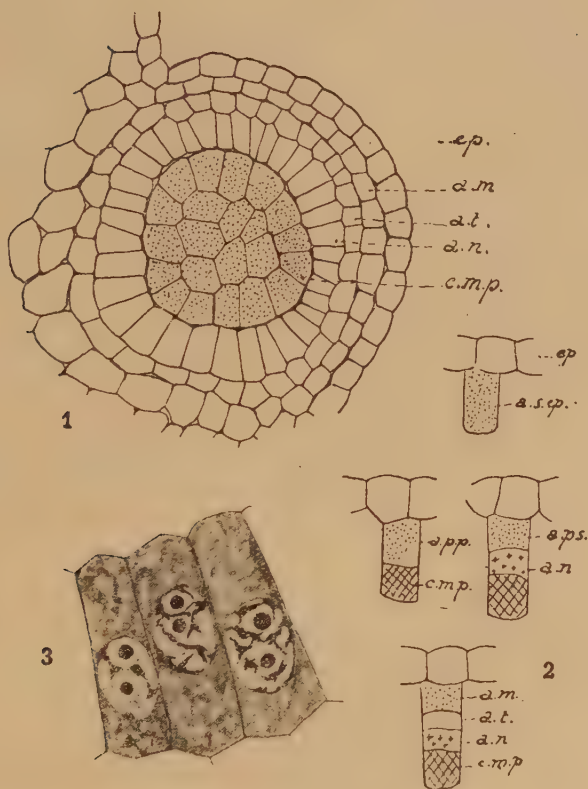
FULLMER [6] paraît être le seul auteur qui ait étudié le développement de l'étamine chez le genre *Hemerocallis*. Son étude, qui se rapporte à *Hemerocallis fulva* L., ne comporte aucune notion d'ordre cytologique ; seule, l'origine des divers tissus de l'anthere et le développement des grains de pollen ont été décrits. L'étude de l'évolution staminale était donc à reprendre presque entièrement dans ce genre ; nous avons étudié l'*Hemerocallis flava* L.

Evolution de l'assise nourricière.— Nous représentons, dans la figure I, l'aspect d'un sac pollinique au moment où la différenciation des cellules est achevée. Le massif pollinique, arrondi, est formé d'une vingtaine de cellules polygonales. Vers l'extérieur, on observe quatre assises de cellules qui sont : extérieurement, l'épiderme (*ép.*) ; au dessous, une assise sous-épidermique qui se transformera plus tard en assise mécanique (*a. m.*), puis une autre assise de cellules semblables aux précédentes, l'assise transitoire (*a. t.*), encore intacte, enfin, au contact du massif pollinique, l'assise nourricière ou tapis (*a. n.*) dont les cellules sont déjà nettement allongées radialement. Ces différentes assises sont formées par une série de cloisonnements qui ont eu lieu conformément au schéma

ci-dessous, que nous empruntons à la thèse de MASCRÉ [29] (fig. 2). L'assise sous épidermique du jeune mamelon staminal s'est divisée tangentiellement en donnant l'assise de cellules mères polliniques vers l'intérieur et l'assise pariétale primordiale (a.p.p.) vers l'extérieur. L'assise pariétale primordiale se divise à son tour pour donner vers l'intérieur le tapis (a.n.) au contact de l'assise goniale et, vers l'extérieur, l'assise pariétale secondaire (a.p.s.). Enfin, cette dernière se divise encore tangentiellement pour donner les deux assises qui deviendront respectivement l'assise transitoire et l'assise mécanique. Comme on le voit, l'assise nourricière résulte du deuxième cloisonnement de l'assise sous-épidermique privilégiée.

Sur la face interne du massif pollinique, on observe des cellules identiques à celles de l'assise nourricière externe. Le massif pollinique est donc entièrement entouré, dès ce moment, par une assise nourricière ou tapis, formée d'éléments tous semblables, mais ayant une double origine. Les cellules situées vers la face externe tirent leur origine, comme les cellules mères polliniques, du cloisonnement de l'assise sous-épidermique ; les cellules de la face interne proviennent des cellules du connectif. Cette origine double de cellules qui, toutes, subiront la même évolution, est extrêmement importante à retenir et MASCRÉ a longuement insisté dans son travail sur ce point qui semble avoir été négligé avant ses observations. Cependant, FULLMER, dans le travail cité, précise la double origine du tapis staminal. Nous reviendrons, dans la troisième partie de notre thèse, sur cette double origine et sur les conclusions qu'on en peut tirer au point de vue de la signification du tapis.

La figure 3 représente les cellules du tapis au même stade et à un grossissement plus fort. Ces cellules ont un noyau déjà volumineux, très chromatique, possédant généralement plusieurs nucléoles. Le cytoplasme ne présente



Hemerocallis flava L

FIG. 1.— Sac pollinique après achèvement des cloisonnements. G. : 300.

FIG. 2.— Schéma des cloisonnements de l'assise sous-épidermique.

FIG. 3.— Cellules du tapis au stade représenté fig. 1. Fixation au Flemming. G. : 1040.

pas encore l'alvéolisation typique des stades plus âgés ; dans les préparations fixées au formol, on observe dans le cytoplasme, creusé seulement de petites vacuoles, des grains mitochondriaux et de très courts batonnets.

La figure 4 correspond à un stade plus âgé. Les cellules mères définitives sont formées ; elles ne présentent encore aucun signe de synapsis. Les cellules du tapis sont encore uninucléées. On observera que le noyau ne présente pas le même aspect que dans la figure précédente. Il a ici un aspect granuleux et cela est dû à la fixation par le formol, tandis que la figure précédente correspond à une fixation par le liquide de FLEMMING. La même observation s'applique aux noyaux des cellules polliniques. Il n'y a donc pas de différence de structure à admettre entre les deux stades considérés. Au contraire, l'aspect du cytoplasme est très différent. On observe maintenant de grandes vacuoles dans le cytoplasme ; tantôt on observe deux grandes vacuoles situées au deux pôles de la cellule, le noyau se trouvant situé au milieu de celle-ci, tantôt il existe une vacuole unique et le noyau se trouve rejeté vers la partie externe de la cellule. D'autre part, il y existe, en dehors de grains mitochondriaux, de véritables chondriocentes souvent assez trapus et pour la plupart orientés radialement. Il existe également quelques inclusions graisseuses qui ne sont pas représentées ici ; ce sont de petits corpuscules réduisant nettement l'acide osmique. Les cellules ne renferment pas d'amidon.

A la période de contraction synaptique correspond la division du noyau des cellules nourricières. Nous avons toujours observé la concordance des deux phénomènes : contraction synaptique du noyau pollinique, division du noyau des cellules nourricières. Nous avons représenté ce moment critique de l'évolution dans la figure 5. On y verra côte à côte quatre cellules du tapis présentant des

stades différents de cette division : depuis le noyau encore au repos dans l'une des cellules jusqu'à la reconstruction de deux noyaux fils dans la cellule voisine. Nous n'avons jamais observé dans les cellules examinées de particularité notable ; les images de la cinèse sont parfaitement typiques.

Les deux noyaux ainsi formés peuvent à leur tour se diviser. Nous n'avons pu observer d'image de cette division simultanée ; mais elle ne fait aucun doute, étant donné l'existence de cellules du tapis tétranucléées, comme celle que nous avons représentée dans la figure 6. Ce phénomène ne se présente que chez quelques cellules assez peu nombreuses.

Enfin les noyaux multiples (deux ou quatre) de la cellule nourricière se fusionnent souvent et nous avons représenté des images de cette fusion dans la figure 7. Dans les cellules du tapis, nous trouverons, à partir de ce moment : tantôt un noyau volumineux correspondant à la fusion de deux noyaux préexistants, tantôt deux noyaux. Il est à noter que cette évolution nucléaire s'effectue entièrement avant la séparation des jeunes grains de pollen. En résumé, c'est dans la période comprise entre le début de la contraction synaptique et la fin de la méiose que se réalisent les phénomènes nucléaires complexes dont les cellules du tapis sont le siège : divisions et fusions nucléaires.

L'évolution du chondriome est plus délicate à suivre, étant donné que la bonne fixation de ses éléments dans les cellules nourricières est toujours assez difficile. Cependant, des observations répétées nous ont permis de suivre cette évolution. La figure 8 représente les cellules du tapis observées vers la fin de la formation des tétrades.

Le cytoplasme est encore très nettement alvéolaire, mais on n'observe plus les deux grandes vacuoles très nettes que l'on rencontre dans toutes les cellules nourricières au stade synaptique. Ces vacuoles se fragmentent ; presque

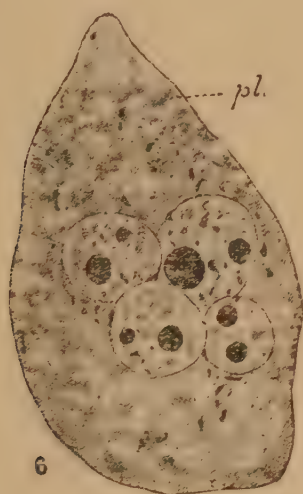


Hemerocallis flava L.

FIG. 4. — Cellules du tapis et cellule mère pollinique définitive avant la contraction synaptique. Fixation au formol ; *ch.* : chondriotes.

FIG. 5. — Cellules du tapis et cellule mère pollinique au stade de la contraction synaptique. Fixation au Flemming ; *osm.* : inclusions osmioréductrices. G. : 1010.

toujours, la fragmentation a lieu d'abord au niveau de la vacuole antérieure, c'est-à-dire de la vacuole située vers le sac pollinique.



Hemerocallis flava L.

FIG. 6. — Cellule nourricière tétranucléée. Fixation au Bouin ; *pl.* : plastes et chondriome altéré. G. : 1040.

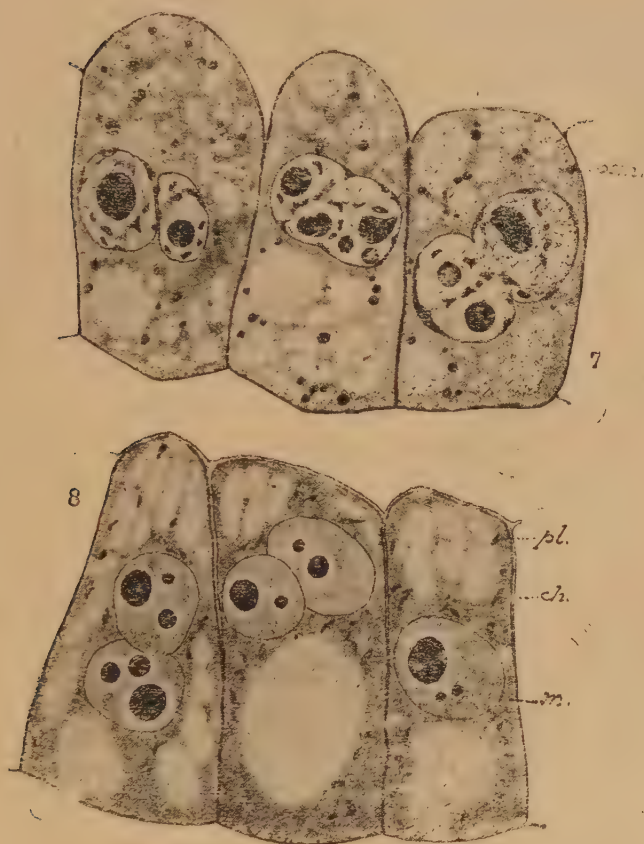
Dans le cytoplasme, on observe des mitochondries, quelques chondriocotes encore, mais surtout de petits plastes, pleins ou vésiculeux, qui proviennent de la transformation des chondriocotes des stades antérieurs. Cette transformation consiste en un renflement et un raccourcissement des chondriocotes. On observe très bien sur la figure des éléments en forme de points d'exclamation (!) qui correspondent à ce stade d'épaississement et de raccourcissement. Ces plastes ne renferment pas d'amidon et doivent être considérés comme des protéoplastes. En

somme, les chondriocotes longs ont partiellement disparu et l'on observe de petits plastes qui n'existaient pas auparavant. Ces derniers sont d'ailleurs toujours beaucoup plus faciles à fixer que les chondriocotes et toujours faciles à mettre en évidence ; on les retrouve, par exemple, après fixation par le liquide de Bouin (fig. 6), alors que les chondriocotes sont détruits ou altérés. Mais surtout, à partir de ce moment, on va voir apparaître dans le tapis de très nombreuses inclusions osmiophiles, dont la nature sera élucidée un peu plus loin.

Il est important de noter également que la membrane de la cellule, vers l'intérieur du sac pollinique, présente dès ce moment un épaississement très net.

Si nous examinons maintenant les cellules du tapis au moment où les jeunes grains de pollen récemment formés ont déjà épaissi leur membrane, voici ce que nous observons (fig. 9) : la cellule présente un, rarement deux noyaux, à contour très net, volumineux encore, mais accusant déjà un appauvrissement sensible en chromatine. Il ne renferme plus généralement qu'un nucléole encore volumineux, mais la substance nucléolaire est sans aucun doute déjà moins abondante que précédemment. Il en est de même de la substance chromatique. Après fixation au formol, la vésicule nucléaire est remplie d'un fin précipité granuleux dans lequel on met difficilement en évidence quelques grains chromatiques sidérophiles. Après fixation par le liquide de Flemming, on constate encore une structure vaguement réticulaire du noyau avec un très petit nombre de grains chromatiques colorables. La différence, à ce point de vue, avec les noyaux observés avant la fin de la méiose est considérable, l'appauvrissement en chromatine, très marqué ; le « lessivage chromatique » ou chromatolyse a commencé.

Le cytoplasme présente fréquemment encore une ou deux grandes vacuoles, mais surtout un ensemble de



Hemerocallis flava L.

FIG. 7. — Fusions nucléaires dans les cellules nourricières. Fixation au Flemming ; *osm.* : inclusions osmioréductrices.

FIG. 8. — Cellules nourricières après la formation des tétrades polliniques. Fixation au formol ; *m.* : mitochondries ; *ch.* : chondriocentes ; *pl.* : plastes. G. : 1040.

vacuoles irrégulières séparées par des trabécules cytoplasmiques ; les modifications de structure signalées plus haut (fragmentation des grandes vacuoles des stades synaptiques) se sont accentuées.

On observe encore des grains mitochondriaux, quelques chondriocentes assez courts et assez trapus, tendant vers la forme plaste, des plastes, des microsomes et le nombre des vésicules osmioréductrices déjà observées a nettement augmenté. La nature de ces vésicules a pu être établie par observation directe sur matériel frais.

Pour observer directement les cellules nourricières à ce moment, nous avons opéré de la façon suivante : on sectionne l'étamine à l'une de ses extrémités, on presse et on recueille sur lame le contenu qui s'échappe ; il est constitué par les grains de pollen baignant dans un liquide plus ou moins abondant et par quelques cellules parmi lesquelles les éléments du tapis sont facilement reconnaissables. On peut obtenir une plus grande quantité de celles-ci en introduisant dans la cavité staminale une pointe de verre très effilée qui détache et ramène des éléments du tapis plus abondants. On observe alors dans la préparation la présence de très nombreuses gouttelettes colorées en jaune orangé. On ne peut affirmer que ces gouttelettes existaient libres dans le liquide staminal, puisqu'il y a eu écrasement, dilacération des tissus, ayant mis en liberté un certain nombre de ces gouttelettes, que l'on observe d'ailleurs encore dans les éléments du tapis.

Lorsqu'on traite la préparation par une goutte de solution d'acide osmique, on observe un noircissement rapide de très petites granulations qui correspondent aux microsomes. Les grosses gouttelettes jaunes réduisent plus faiblement l'acide osmique et prennent une teinte grisâtre. Nous avons d'autre part utilisé pour colorer tous ces éléments qui, osmiophiles, paraissent être constitués par des matières grasses, la méthode « Nadi » au bleu

d'indophénol naissant, préconisée par ZWEIBAUM et MANGENOT (1).

On voit alors que les petits grains (microsomes) se colorent immédiatement en bleu, ce qui démontre leur nature grasseuse. Les globules colorés se colorent aussi en bleu, mais plus lentement et la teinte obtenue est d'un bleu plus ou moins violacé. Ces réactions, comme leur coloration jaune orangé, permettent de supposer que ces vésicules sont des gouttelettes de graisses imprégnées de carotène. On sait d'ailleurs que la présence de carotène a été démontrée, dans l'assise nourricière et dans les grains de pollen de certaines espèces, par BERTRAND et POIRAUT [1] qui ont extrait le carotène des anthères et du pollen des *Verbascum*. Nous avons pu vérifier que tous ces éléments prennent au contact de l'acide sulfurique la coloration bleue caractéristique du carotène (2). Il est à noter que certains de ces globules présentent un double contour ; on y distingue une zone centrale entourée par une écorce plus ou moins épaisse ; chez ces corpuscules, l'inclusion centrale se colore plus rapidement et plus fortement en bleu que l'écorce.

Nous n'avons jamais observé de pigment sous forme cristallisée.

En somme, les cellules du tapis, à ce moment de leur

(1) La technique que nous avons suivie est celle qu'ont appliquée ZWEIBAUM et MANGENOT [59]. On prépare les solutions suivantes :

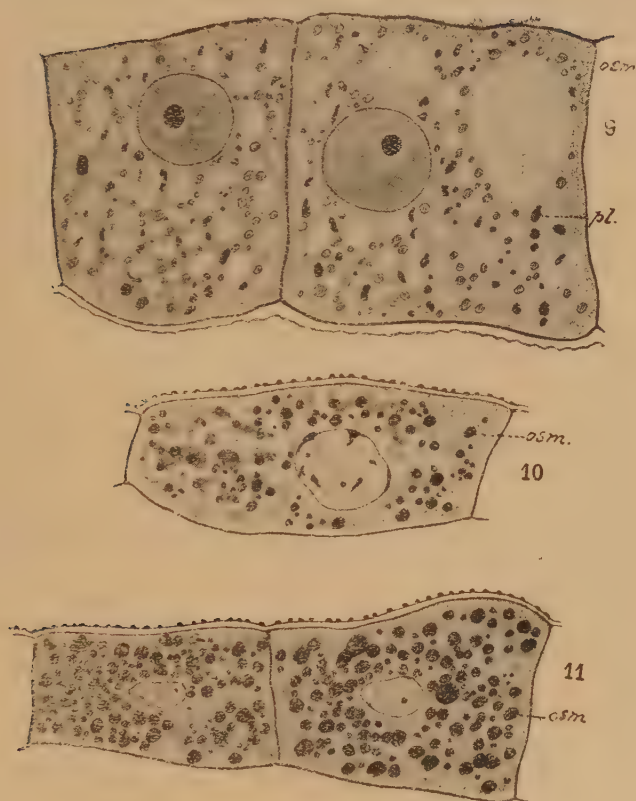
A) Solution de naphthol α à 0,5 p. 100 dans une solution alcaline renfermant environ 0,2 p. 100 de KOH. On chauffe légèrement pour dissoudre.

B) Solution aqueuse de chlorhydrate de diméthylparaphénylènediamine à 0,5 p. 100.

Le mélange « Nadi » est obtenu en mélangeant : 20 cm³ d'eau distillée + 2 cm³ de solution A + 2 cm³ de solution B. On place directement ce mélange sur la préparation à observer.

(2) Nous avons obtenu les résultats les plus nets avec le mélange suivant :

Acide sulfurique concentré.....	2 vol.
Eau distillée	1 vol.



***Hemerocallis flava* L.**

FIG. 9. — Cellules nourricières. Fixation au formol ; *pl.* : plastes ; *osm.* : inclusions osmioréductrices, d'après fixation au Flemming sur cellules au même stade de développement.

FIG. 10 et 11. — Cellules nourricières plus âgées. Fixation au Flemming ; *osm.* : inclusions osmioréductrices. G. : 1040.

évolution, qui s'étend depuis le début des cinèses de maturation jusqu'à la séparation des jeunes grains de pollen, se sont chargées de globules graisseux imprégnés de pigments carotinoides. Il nous a été impossible, malgré tous nos soins, d'établir une relation certaine entre les éléments du chondriome et ces inclusions graisseuses ; elles apparaissent donc dans le cytoplasme et sont formées sans intervention du chondriome. Il nous apparaît probable que les microsomes osmiophiles de la cellule jeune servent de centre d'accumulation aux matières grasses et que les inclusions graisseuses se forment par accroissement des microsomes.

Il n'y a pas de grains d'amidon dans les cellules nourricières.

La paroi du tapis vers l'intérieur du sac pollinique, toujours épaissie, retient, quoique assez faiblement, la safranine et le violet cristal, lorsqu'on surcolore les préparations par ces réactifs et les décolore ensuite : par l'alcool chlorhydrique dans le premier cas, par l'acide acétique dilué dans le second. On observe parfois, à la surface de la membrane, de fines granulations retenant l'hématoxyline, lorsqu'on fait la coloration suivant la méthode d'HEIDENHAIN.

A partir de ce moment, la dégénérescence du tapis se poursuit, mais on constatera encore, au moment où l'éta mine va s'ouvrir, la présence de cellules du tapis dissociées, disjointes, mais à parois parfaitement intactes.

La figure 10 représente une cellule du tapis dans une préparation dont les grains de pollen sont binucléés. Cette préparation a été fixée par le liquide de Flemming. Les noyaux ont partout diminué de volume. Celui que l'on a dessiné est parmi les plus volumineux qu'on observe. Ces noyaux n'ont pas de structure reconnaissable. Ici, on observe bien encore quelques inclusions chromatiques sidérophiles. La grande majorité des noyaux, lorsqu'on

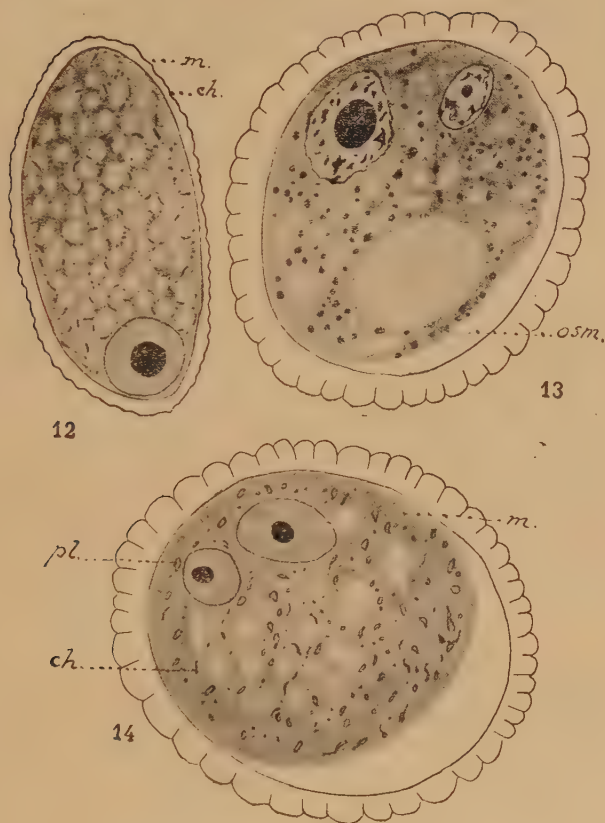
différencie les coupes à l'alun de fer, restent pendant un moment uniformément colorés par l'hématoxyline, puis brusquement se décolorent, sans que l'on puisse observer d'inclusions reconnaissables, à l'exclusion d'un ou deux petits points correspondant aux nucléoles et qui, d'ailleurs, se décolorent eux-mêmes assez rapidement. Il est probable que les noyaux, à ce moment, renferment encore une petite quantité de chromatine diffuse, uniformément répartie dans la cavité nucléaire.

Dans la même préparation, le cytoplasme se montre vaguement alvéolaire et grossièrement granuleux. La coloration à l'hématoxyline suivant la méthode de REGAUD colore des grains et des plastes ; ceux-ci, non altérés par la fixation, ne diffèrent pas de ceux de la figure 9.

La figure 11 représente une cellule nourricière de la même étamine, fixée au liquide de Flemming et directement colorée par la méthode à la safranine-vert lumière. Le noyau apparaît sous forme d'une masse ovoïde, uniformément teinte en rose par la safranine. Le cytoplasme est entièrement masqué par les vésicules graisseuses fortement colorées en noir par l'acide osmique. Les plastes, difficilement visibles au milieu des inclusions graisseuses, sont reconnaissables par la faible coloration que leur donne la safranine.

Lorsque l'étamine est prête à s'ouvrir, on distingue encore des cellules du tapis disjointes, aplaties, bourrées d'inclusions osmiophiles, qui retiennent faiblement l'hématoxyline quand on colore les coupes suivant la méthode d'HEIDENHAIN.

Evolution des éléments polliniques. — Dans les cellules primordiales et dans les cellules mères définitives, le chondriome est représenté par des grains et des chondriocotes courts (fig. 4). Les chondriocotes disparaissent ultérieurement, vers le moment de la contrac-



Hemerocallis flava L.

FIG. 12. — Jeune grain de pollen, fixé au formol.

FIG. 13. — Grain de pollen binucléé fixé au Flemming.

FIG. 14. — Grain de pollen binucléé fixé au formol ; *m.* : mitochondries ; *ch.* : chondriocontes ; *pl.* : plastes amylières ; *osm.* : inclusions osmioréductrices. G. : 1040.

tion synaptique et, dans les cellules mères à ce moment, de même que dans les cellules de la tétrade, le chondriome nous apparaît constitué exclusivement par des grains répartis dans un cytoplasme compact, très finement alvéolaire, renfermant d'autre part quelques inclusions osmio-
philes (fig. 5).

De très bonne heure, dans le jeune grain de pollen libre, apparaissent de très nombreuses granulations graisseuses. Certains auteurs considèrent que ces graisses apparaissent au sein de petits plastes (éleoplastes différenciés). Nos préparations ne nous permettent ni d'infirmer, ni de confirmer cette manière de voir. Nous pouvons dire seulement que l'apparition de graisses s'effectue rapidement pour cesser bientôt d'augmenter.

Dans les tout jeunes grains de pollen, le chondriome se trouve constitué à nouveau par des grains et des chondriocotes courts. Dans la figure 12, on observe, dans un grain de pollen encore uninucléé, un cytoplasme creusé d'alvéoles régulières, avec des grains et de très courts chondriocotes. On n'observe que rarement, à ce stade, de très petits grains d'amidon, alors que la formation des corpuscules graisseux paraît achevée.

Les figures 12 et 13 représentent des grains de pollen plus âgés, binucléés, dont l'évolution n'est pas encore complètement achevée. Le pollen de la figure 13 a été fixé au liquide de Flemming. Le noyau végétatif y présente un aspect légèrement amiboïde, souvent beaucoup plus marqué, qui se rencontre fréquemment à ce stade de l'évolution du pollen. Le cytoplasme, contracté par le fixateur, est creusé d'une grande vacuole accompagnée de quelques vacuoles plus petites. On rencontre de nombreuses inclusions graisseuses et quelques petits grains d'amidon.

Le pollen de la figure 13, sensiblement du même âge que le précédent, a été fixé au formol et coloré à l'héma-

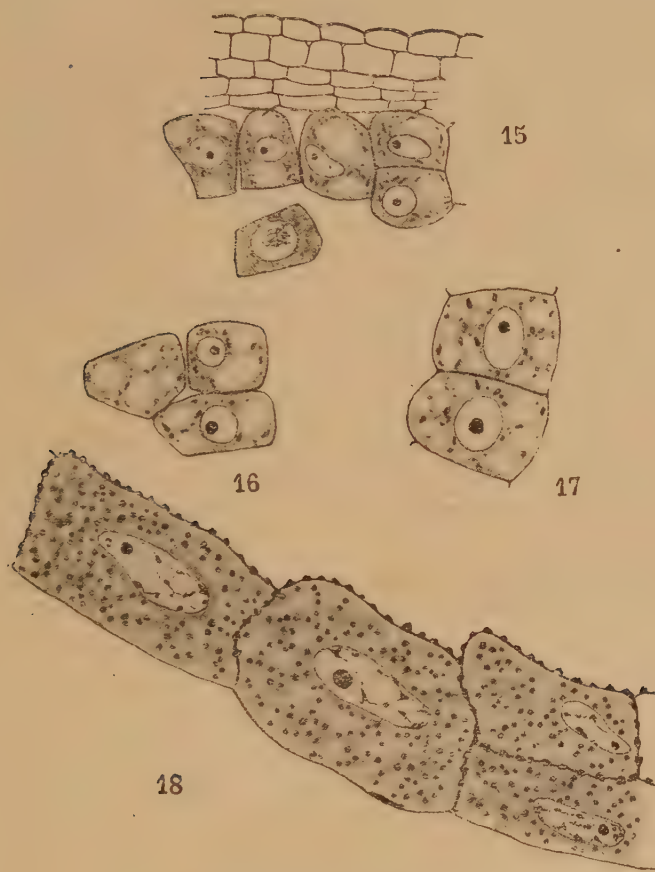
toxyline suivant la méthode de REGAUD. Le cytoplasme est encore vacuolaire et semé de grains mitochondriaux, de petits chondriocotes et de petits plastes amylières.

Le pollen mûr est rempli de grains d'amidon et de globules graisseux. Dans les minces trabécules de cytoplasme que l'on distingue entre ces grains et ces globules, on observe des grains mitochondriaux et de très courts batonnets. Les vacuoles ont complètement disparu.

Comme on le voit, l'évolution du chondriome dans les cellules mères polliniques et dans le grain de pollen concorde assez exactement avec les descriptions données par WAGNER [52] pour *Veratrum album* L., par DOUZE KRJATSCHENKO [24] chez *Lilium croceum* Chaix, par GUILLIERMOND [16] chez *Lilium candidum* L., par KRUPKO [25] chez *Gagea lutea* L. Nous n'avons pas observé chez les cellules en caryocinèse d'orientation spéciale des éléments du chondriome.

Aquilegia vulgaris L.

Aux quatre angles du mamelon staminal, les cloisonnements de l'assise sous-épidermique donnant naissance aux tissus de l'étamine adulte se font conformément au schéma que nous avons donné à propos de l'Hémérocalle. L'assise sous-épidermique privilégiée détache donc vers l'intérieur, par des cloisonnements successifs : cellules-mères primordiales, tapis et assise pariétale secondaire, mais celle-ci se cloisonne encore dans le sens tangentiel, de sorte que la paroi comprend finalement, en dessous de l'épiderme, quatre assises de cellules, dont la plus interne, au contact du tapis, constitue l'assise transitoire (fig. 15).



***Aquilegia vulgaris* L.**

FIG. 15. — Portion de l'étamine au stade synaptique. Fixation au formol.

FIG. 16 et 17. — Cellules nourricières un peu plus âgées, fixées au formol.

FIG. 18. — Cellules nourricières plus âgées, fixées au Flemming. G. : 1200.



Lorsque les cloisonnements sont achevés, on constate d'abord que les éléments du tapis et les cellules mères polliniques sont relativement petits par rapport à ce que l'on observe chez les autres espèces étudiées. Mais, surtout, les caractères particuliers aux cellules nourricières apparaissent plus tardivement que de coutume et les phénomènes nucléaires ne présentent pas les complications habituelles. Au moment de la contraction synaptique (fig. 15), le cytoplasme des cellules nourricières est, cependant, très nettement vacuolaire. Le chondriome y est représenté par des grains et des chondriocontes minces et courts. Les seules inclusions osmiphiles que l'on observe sont des microsomes. La cellule ne renferme qu'un noyau, plus volumineux que celui des cellules végétatives et plus chromatique aussi, mais les cellules restent uninucléées. Il arrive quelquefois cependant que le noyau se divise, mais il apparaît alors entre les deux noyaux fils une cloison et le tapis est constitué, sur divers points, par deux assises uninucléées superposées.

Les cellules du tapis augmentent légèrement de volume pendant la période de maturation des éléments polliniques en restant toujours uninucléées. Les cellules du tapis représentées dans la figure 17 correspondent à la libération des jeunes grains de pollen. Les grandes vacuoles de la période synaptique se sont fragmentées en vacuoles plus petites. Dans le cytoplasme, on observe des grains mitochondriaux et de très petits plastes non amylières. Ceux-ci proviennent de la transformation des chondriocontes préexistants, dont on ne trouve plus que de très rares représentants.

La figure 16 représente, vues en coupe tangentielle, des cellules du tapis à un stade intermédiaire entre ceux des figures 15 et 17. On y voit dans le cytoplasme des mitochondries, quelques chondriocontes non transformés et déjà quelques petits plastes. Les granulations graisseuses sont

à peine plus nombreuses et plus volumineuses qu'au stade synaptique.

Après la séparation des jeunes grains de pollen, les cellules du tapis augmentent considérablement de volume (fig. 18). Le noyau est beaucoup plus volumineux, allongé, souvent amiboïde et, après fixation au liquide de Flemming, on y distingue encore un réseau portant de place en place quelques grains chromatiques. Le cytoplasme est grossièrement granuleux et alvéolaire et renferme de nombreux grains osmioréducteurs de nature grasseuse. Il faut noter que l'accumulation des graisses dans les cellules nourricières est ici plus tardive et moins abondante que chez l'Hémérocalle et les autres espèces que nous étudions plus loin. Après fixation au formol et coloration suivant REGAUD, on retrouve dans le cytoplasme les mêmes petits plastes que précédemment.

La paroi des cellules du tapis se présente, à ce moment, couverte de petites proéminences très nombreuses, se colorant fortement par l'hématoxyline, par la safranine, par le violet cristal. Ces formations existent non seulement sur la face tournée vers le sac pollinique, mais aussi sur les faces latérales ; lorsqu'il y a deux cellules nourricières superposées, on les observe même sur la cloison mitoyenne. Elles manquent sur la cloison externe des cellules. Les cellules nourricières de l'*Aquilegia vulgaris* L. offrent donc un exemple des plus nets de ces ornements de la membrane dont nous discuterons plus tard la nature.

Au cours de la dégénérescence finale du tapis, les cellules s'affaissent tout en conservant leur paroi, le noyau diminue de volume jusqu'à ne plus former qu'un grumeau à peine reconnaissable et à peine colorable. On retrouve encore au dernier stade des inclusions grasseuses.

La petitesse des éléments polliniques nous a rendu très difficile l'étude du chondriome. Nous avons pu constater

pourtant que, dans les cellules primordiales, le cytoplasme renferme des mitochondries et de très minces chondriocotes courts ; dans les cellules de la tétrade, on ne retrouve que des grains mitochondriaux et, dans le jeune grain de pollen, les graisses et l'amidon apparaissent dans les conditions habituelles.

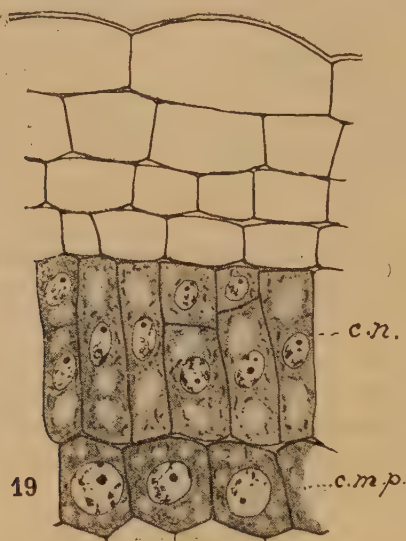
Ces résultats confirment les faits observés par WAGNER [52] d'une part, par Mademoiselle PY [41] d'autre part, chez l'*Helleborus foetidus* L., les observations de ces auteurs ne différant que par quelques détails secondaires.

Dans une autre Renonculacée, *Caltha palustris* L., WAGNER [52] a observé de même la fragmentation des chondriosomes au moment de la formation des tétrades. Nous n'avons pas observé dans nos préparations la plaque « chondriosomique » signalée par WAGNER [52] et par Mademoiselle PY [41], ou plus exactement les aspects que nous avons observés étaient moins nets que ceux qu'ont observés ces auteurs.

Digitalis purpurea L.

L'origine du tapis est identique à celle que nous avons décrite chez les genres précédents. Le tapis externe est formé par le deuxième cloisonnement de l'assise sous-épidermique privilégiée, le premier cloisonnement ayant donné les cellules goniales initiales. L'assise pariétale secondaire se divise ici plusieurs fois, de sorte que, lorsque la différenciation des tissus staminaux est achevée, la paroi staminale comprend, entre l'épiderme et le tapis, trois ou quatre assises de cellules, dont la plus interne formera l'assise transitoire (fig. 19).

Le tapis interne est formé, comme de coutume, par différenciation des cellules du connectif au contact du massif pollinique.



Digitalis purpurea L.

Fig. 19. — Jeune étamine avant la synapsis. Fixation au formol ; *c. n.* : cellules nourricières ; *c. m. p.* : cellules mères polliniques définitives. G. : 1200.

Lorsque tous ces cloisonnements sont achevés, y compris les cloisonnements des cellules goniales primordiales, l'anthère présente un arc pollinique dont la concavité est occupée par ce que CHATIN [4] a appelé le placentoïde. L'arc pollinique est formé très régulièrement de quatre rangées de cellules mères définitives. Le tapis, à ce moment, présente déjà une vacuolisation marquée du cytoplasme (fig. 19). Ses cellules sont uninucléées, il est intéressant de noter que, sur de nombreux points, les cellules nourricières primitives se sont cloisonnées tangentielle-ment et que, dans ces régions, le tapis est formé de deux cellules superposées uninucléées.



***Digitalis purpurea* L.**

FIG. 20. — Cellules nourricières et cellule mère pollinique à la période synaptique. Fixation au formol.

FIG. 21. — Cellules nourricières surmontant le placentaire, à la période de libération des jeunes grains de pollen. Fixation au formol.

FIG. 22. — Jeunes grains de pollen fixés au formol, G. : 1200,

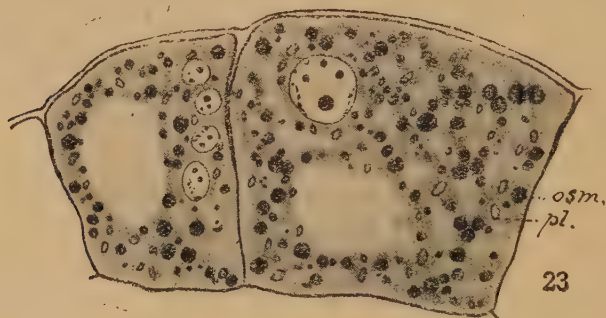
A la période synaptique, le tapis est très nettement vacuolaire, le chondriome est représenté par des grains et des chondriocotes. Il existe déjà d'assez nombreuses inclusions graisseuses, plus volumineuses que les microsomes typiques, et le noyau se divise. Dans de nombreux éléments, il y a deux divisions nucléaires successives et presque partout la cellule du tapis possèdera quatre noyaux fortement chromatiques, avec un ou deux nucléoles. Ces noyaux se fusionnent ensuite et cette fusion est plus ou moins complète. Lorsqu'est achevée la formation des tétrades, on observera donc des cellules très variables au point de vue nucléaire. Les unes ont conservé les quatre noyaux primitivement formés. Chez d'autres, on trouvera deux noyaux « bivalents », chez d'autres enfin, un seul noyau « tétravalent ». Tous ces noyaux sont encore nettement chromatiques et le nombre des nucléoles varie avec la taille et la valeur des noyaux considérés. En gros, on trouve environ deux nucléoles chez les noyaux univalents, quatre chez les bivalents, huit chez les noyaux tétravalents, ces nombres n'étant évidemment qu'une moyenne (fig. 20).

Lorsque cette évolution nucléaire est achevée, lors de la séparation des jeunes grains de pollen, le cytoplasme de la cellule a subi des modifications : fragmentation des grandes vacuoles en vacuoles plus petites. Le chondriome s'est modifié. On n'observe plus de chondriocotes vrais, mais de petits plastes généralement un peu allongés, provenant évidemment de la transformation des chondriocotes, et des grains. Ces plastes ne renferment pas d'amidon. Le nombre et surtout le volume des inclusions graisseuses a augmenté.

Il y a lieu de signaler, à ce moment, l'énorme développement des cellules nourricières qui coiffent le placentode et en écrasent parfois plus ou moins les cellules (fig. 21). L'énorme développement de ces cellules est tout à fait

comparable à celui que MASCRÉ [29] a observé chez diverses Solanacées.

Nous pouvons être très bref en ce qui concerne l'évolution ultérieure du tapis. La membrane s'épaissit légèrement sur la face interne. Le cytoplasme devient grossièrement vacuolaire et granuleux ; on y retrouve les petits plastes signalés précédemment et de très nombreuses inclusions grassieuses osmiophiles (fig. 23). Les noyaux disparaissent peu à peu.



Digitalis purpurea L.

FIG. 23. — Cellules nourricières fixées au Flemming ; *osm.* : inclusions osmioréductrices ; *pl.* : plastes. G. : 1200.

Il y a appauvrissement en chromatine, diminution de volume des nucléoles et de la masse nucléaire totale. Vers la maturité de l'étamine, le tapis ne forme plus que des lambeaux bourrés d'inclusions osmioréductrices et qui se teintent par l'hématoxyline.

Chez le pollen, l'évolution du chondriome peut être résumée très rapidement aussi : grains et batonnets courts avant la synapsis ; présence exclusive ou presque de granulations pendant la méiose ; dans les cellules de la tétrade et le jeune grain de pollen : réapparition de chondriotes qui, dans le jeune grain (fig. 22), nous ont paru

beaucoup plus allongés que dans le pollen des autres espèces étudiées. Ensuite apparaît l'amidon. Des granulations graisseuses se sont accumulées également ; rares encore dans les cellules de la tétrade, elles sont devenues bientôt plus nombreuses et l'accumulation de ces inclusions graisseuses est achevée au moment où apparaît l'amidon. Le grain adulte apparaît donc bourré d'inclusions graisseuses et de petits grains d'amidon et l'on y peut mettre en évidence, dans le cytoplasme, des grains mitochondriaux avec de très courts batonnets.

Campanula Rapunculus L.

La figure 24 représente l'étamine très jeune dans laquelle les cellules mères polliniques sont très nettement distinctes, les cloisonnements pariétaux étant encore inachevés. Ces cloisonnements se font suivant le mode que nous avons déjà longuement décrit. L'origine des cellules du tapis y est la même (voir le schéma de la figure 2).

Au stade représenté ici, l'assise pariétale primordiale a subi partout un cloisonnement tangentiel. L'assise la plus interne au contact du massif pollinique ne se divisera plus et constituera le tapis, qui se complète vers le connectif par des cellules végétatives subissant la même différenciation. L'assise pariétale secondaire donnera, par un nouveau cloisonnement tangentiel, deux rangées de cellules. Ce cloisonnement est réalisé dans l'étamine de la figure 25.

Dans l'étamine de la figure 25, les cloisonnements des cellules mères primordiales sont achevés et le massif est constitué par des cellules mères définitives qui ne présentent encore aucun signe de contraction synaptique.

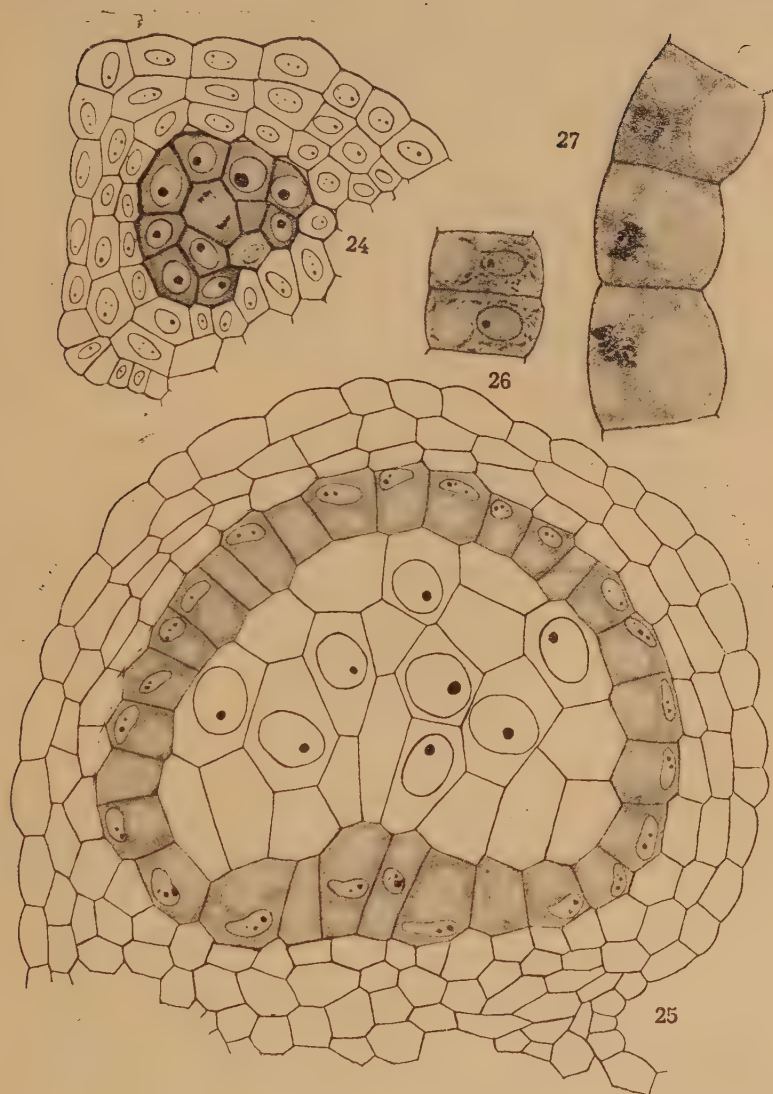
L'assise nourricière a déjà pris un aspect très différencié. Ses cellules sont uninucléées ; le noyau et le cytoplasme sont fortement comprimés par une ou plusieurs vacuoles volumineuses ; presque partout, le noyau est rejeté vers la partie externe de la cellule. On remarquera que les cellules du tapis interne sont particulièrement développées et l'examen des préparations montre que la différenciation de ces cellules est toujours plus précoce que celle des éléments du tapis externe, fait intéressant à signaler, et sur lequel MASCRÉ [29] a déjà attiré l'attention chez les Solanacées.

La division du noyau des cellules nourricières a toujours lieu après que l'alvéolisation du cytoplasme est réalisée et elle débute très sensiblement au moment où les premiers signes de la contraction synaptique apparaissent dans les cellules goniales.

Nous avons représenté dans la figure 27 trois cellules du tapis chez lesquelles a lieu la division du noyau, division qui ne présente aucune particularité.

A tous les stades présynaptiques, le chondriome des éléments nourriciers est constitué par des grains et des chondriocontes assez courts (figures 26, 28 et 29). Ces cellules renferment également des granulations osmioréductrices. Ces granulations, au début de la différenciation staminale, sont identiques dans les cellules de la paroi et du tapis et, par leur taille, se confondent avec des microsomes, mais bientôt ces grains deviennent plus nombreux et certains d'entre eux, plus volumineux, dans l'assise nourricière. C'est donc de très bonne heure que débute chez celle-ci l'accumulation de substances grasses qui la caractérise.

Dans les cellules mères primordiales et définitives, le cytoplasme est creusé de vacuoles plus ou moins inégales suivant les cellules. Il est semé de grains et de batonnets mitochondriaux (fig. 33). Le chondriome des éléments



Campanula Rapunculus L.

FIG. 24. — Très jeune sac pollinique.

FIG. 25. — Sac pollinique après achèvement des cloisonnements. G. : 530.

FIG. 26. — Très jeunes cellules nourricières, à un stade antérieur à celui de la fig. 25.

FIG. 27. — Caryocinèses dans les cellules nourricières à la période synap-
tique, G. : 1040.

polliniques nous a paru assez souvent plus abondant au voisinage immédiat du noyau. Les inclusions osmiophiles sont les mêmes que dans le tapis, mais toujours moins nombreuses. Elles sont même parfois très rares.



23



29

***Campanula Rapunculus* L.**

FIG. 28. — Cellules nourricières externes.

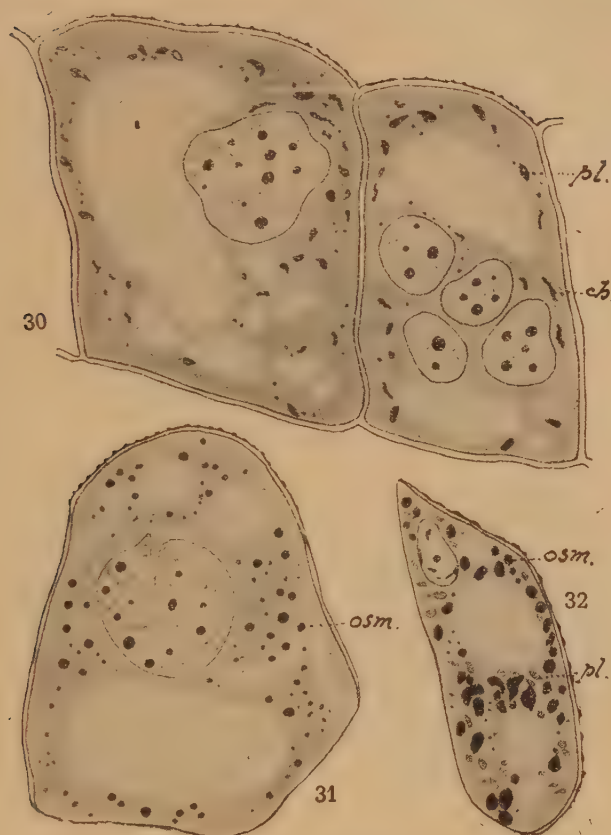
FIG. 29. — Cellules nourricières surmontant le placentaire. Période pré-synaptique. Fixation au formol. G. : 1040.

Ni l'assise nourricière, ni les cellules mères du pollen ne renferment d'amidon, alors que celui-ci existe dans les cellules de la paroi externe et du connectif.

L'évolution ultérieure du tapis, depuis le début de la période synaptique jusqu'à la fin de la formation des tétrades, est surtout marquante chez les noyaux. Les divisions nucléaires se poursuivent et la plupart des cellules,

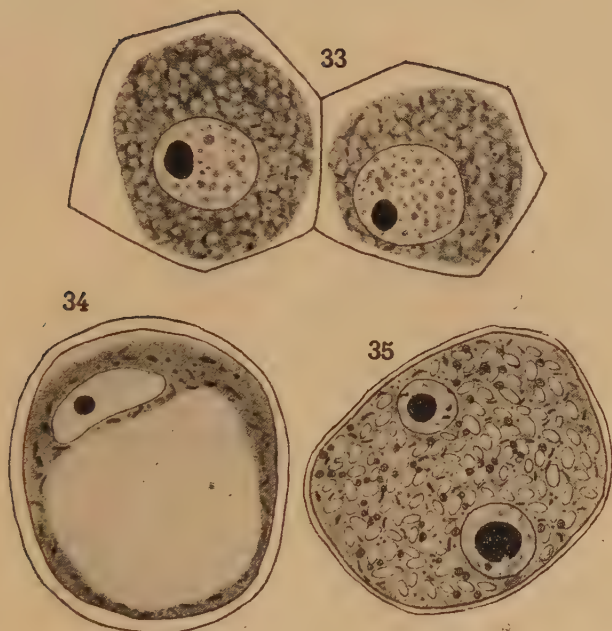
au cours de cette période, possèdent quatre noyaux. Ceux-ci sont pourvus de plusieurs nucléoles et riches en chromatine. La structure du noyau, dans nos dessins, en raison du fixateur employé (formol), est une structure granulaire et certaines de ces granulations, particulièrement sidérophiles, correspondent à la substance chromatique. La fixation au liquide de FLEMMING laisse reconnaître un réseau sur lequel sont réparties les masses chromatiques. Suivant la règle, les noyaux se fusionnent ultérieurement. La fusion est presque toujours complète, de telle sorte qu'aux stades ultérieurs, on trouvera des cellules pourvues d'un seul noyau particulièrement volumineux, pourvu de nombreux nucléoles. On observe très bien, dans la cellule de gauche de la figure 30, un noyau volumineux, présentant un contour irrégulier et qui correspond évidemment à l'union de quatre noyaux. Dans la figure 31, nous avons représenté un noyau volumineux formé par fusion, celle-ci encore inachevée, comme le montre l'existence d'une incision incomplète de la masse. On comprend facilement que des images semblables aient été considérées autrefois comme correspondant à une division amitotique du noyau. Le cytoplasme est encore très vacuolaire ; cependant, au lieu d'une ou deux vacuoles très volumineuses, comme celles des figures 28 et 29, on observe une vaste vacuole accompagnée d'autres vacuoles plus petites. Dans le cytoplasme, le chondriome est représenté par des grains et par des chondriocotes un peu plus allongés, mais assez trapus. L'existence de ces chondriocotes, relativement allongés, correspond au moment du développement maximum du tapis ; à la fin de la formation des tétrades, les chondriocotes longs sont moins nombreux et il existe dans la cellule des petits plastes très bien définis, non amylières (fig. 30).

A ce moment également, il y a lieu de noter l'existence d'inclusions osmiophiles de taille variable, depuis la taille



***Campanula Rapunculus* L.**

- FIG. 30. — Cellules nourricières à la fin de la formation des tétrades. Fixation au formol.
- FIG. 31. — Cellules nourricières à la fin de la formation des tétrades. Fixation au Flemming.
- FIG. 32. — Cellule nourricière plus âgée, fixée au Flemming ; *ch.* : chondriocentes ; *pl.* : plastes ; *osm.* : inclusions osmoréductrices. G. ; 1040.



Campanula Rapunculus L.

FIG. 33. — Cellules mères polliniques définitives avant la contraction synapique. Fixation au formol.

FIG. 34. — Jeune grain de pollen, fixé au formol.

FIG. 35. — Grain de pollen adulte fixé au formol. On y a représenté les inclusions osmioréductrices d'après d'autres préparations fixées au Flemming. G. : 1200.

d'un micrososome jusqu'à celle d'un plaste. Nous n'avons jamais observé de rapport direct évident entre ces inclusions graisseuses et les éléments du chondriome. Ces inclusions graisseuses sont moins abondantes que dans d'autres espèces étudiées, par exemple l'Hémérocalle.

L'évolution ultérieure du tapis consiste dans une dégénérescence rapide de la cellule, dont nous avons représenté l'un des derniers stades dans la figure 32. Les noyaux sont extrêmement réduits, très pauvres en chromatine, les nucléoles sont très petits et il n'y a plus de structure nette. La dégénérescence du noyau s'effectue par contraction et appauvrissement graduel en chromatine. Le cytoplasme est devenu grossièrement granuleux et vacuolaire, et riche en inclusions que l'on peut ramener à deux types. Les unes, franchement safraninophiles et sidérophiles, sont les plastes persistants des stades précédents ; les autres sont des inclusions faiblement sidérophiles et franchement osmioréductrices. La distinction de ces deux formations, quoique assez délicate, est très nette. Quant aux inclusions osmiophiles, elles ont été observées sur matériel frais, comme nous l'avons fait dans le cas de l'Hémérocalle. Quoique sensiblement incolores, ces vésicules, dont la coloration par le « Nadi » montre bien la nature graisseuse, prennent au contact de l'acide sulfurique une très légère teinte bleue qui témoigne de l'imprégnation par une petite quantité de carotène.

Au cours de toute cette évolution, la paroi des cellules nourricières s'est épaissie et elle se colore faiblement par la safranine ; elle est souvent ornée de petits points sidérophiles et safraninophiles, se colorant aussi par le violet cristal.

Chez les éléments polliniques, le chondriome était constitué, au stade des cellules mères définitives, par des grains et des bâtonnets. A la période synaptique, les bâtonnets disparaissent et l'on n'observe plus que des

grains. De courts chondriocotes apparaissent à nouveau dans les jeunes grains de pollen.

Nous représentons, dans la figure 34, un jeune grain dont le cytoplasme est repoussé vers la paroi par une grande vacuole. On y observe à nouveau des grains, de courts chondriocotes et de petites vésicules. Il n'y a pas encore d'amidon. La vacuole se résorbe ensuite. Le cytoplasme finit par occuper toute la cavité du grain de pollen et l'amidon apparaît au sein de très petits-plastes, à mesure que se résorbe la vacuole.

Les grains de pollen adultes offrent un amas très serré de petits grains d'amidon et de granulations graisseuses osmiophiles. On distingue de plus, par un examen attentif, des grains et de très courts batonnets de nature mitochondriale (fig. 35).

Bryonia dioica Jacq.

L'évolution de l'étamine étant très semblable à ce que nous avons observé chez les autres espèces étudiées, nous pouvons nous borner à une description rapide. Les cloisonnements sont typiques. Au stade présynaptique : tapis uninucléé vacuolaire avec quelques inclusions osmiophiles et un chondriome représenté par des grains et de nombreux chondriocotes courts. Pas d'amidon. Les divisions nucléaires et les fusions ultérieures des noyaux s'effectuent, ici encore, depuis le début de la période synaptique jusqu'à la fin de la formation des tétrades. Le chondriome, à la période synaptique, est identique au précédent. Les chondriocotes, dans l'ensemble, sont seulement un peu plus allongés. Nous avons représenté, dans la

figure 36, le tapis à la fin de la formation des tétrades polliniques. On remarquera combien le noyau est riche en chromatine. Celle-ci forme des masses volumineuses réunies entre elles par un fin réseau achromatique; il y a toujours plusieurs nucléoles. L'aspect, après fixation par le formol, est différent, comme de coutume, et la cavité nucléaire apparaît alors remplie de granulations assez régulières, dont quelques-unes retiennent assez fortement l'hématoxyline. Nous avons déjà signalé, à propos d'autres espèces, cette différence d'aspect.



Bryonia dioica Jacq.

FIG. 36. — Cellules nourricières et tétrade pollinique, fixées au Flemming; *osm.* : inclusions osmioréductrices. G. : 1200.

Cette différence observée suivant le mode de fixation confirme bien ce qui a été déjà signalé par plusieurs auteurs, en particulier par NOEL et MANGENOT [40] et confirmé plus récemment par MASCRÉ [34]. On remarque

aussi; qu'après fixation au formol, les vacuoles ont un contour extrêmement net et le cytoplasme fondamental, un aspect très homogène. Au contraire, dans les préparations fixées au liquide de Flemming, le cytoplasme a une structure granuleuse et les vacuoles, un contour moins précis.

La figure 37 montre que le chondriome, à ce stade de l'évolution du tapis, est représenté exclusivement par des grains. Il n'y a pas de petits plastes comme ceux que l'on observe, par exemple, dans la Campanule. On peut donc admettre que les chondriocontes courts des stades précédents ont subi une fragmentation en grains comparable au phénomène identique que l'on observe dans les éléments polliniques.

Il existe également dans les cellules nourricières des corpuscules graisseux (fig. 36).

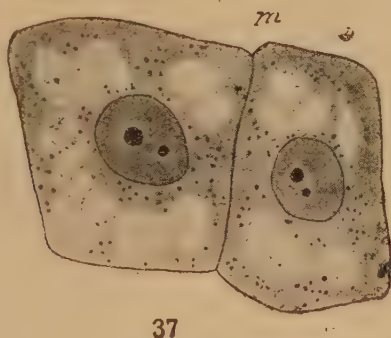
La dégénérescence du tapis se poursuit à la manière habituelle, avec accumulation d'inclusions graisseuses, cependant moins abondantes que de coutume. Nous n'avons pas observé de plastes. Toutes les colorations mitochondriales que nous avons effectuées ne nous ont jamais montré que des granulations semblables à celles que nous avons représentées dans la figure 37.

En somme, dans la Bryone, il semble que l'évolution du chondriome soit moins complète que de coutume et que les chondriocontes courts observés vers la période synaptique se réduisent un peu plus tard en granulations, sans qu'il y ait formation de plastes.

La dégénérescence nucléaire s'effectue encore par contraction du noyau et lessivage chromatique. Nous représentons, dans les figures 38 et 39, les noyaux fixés au liquide de Flemming, colorés à l'hématoxyline, et qui montrent bien, quand on les compare à ceux de la figure 36, l'appauvrissement graduel en chromatine.

Dans la figure 38, les noyaux présentent encore des

pièces chromatiques assez volumineuses et très colorables. Cependant, si l'on considère, non plus un noyau isolé, mais l'ensemble des noyaux, à ce stade où les jeunes grains de pollen ont déjà une membrane ornementée, et l'ensemble des noyaux au stade antérieur, qui correspond à la figure 37, on est facilement convaincu qu'il y a une diminution très nette du matériel chromatique ; les nucléoles aussi ont considérablement diminué de volume ; l'appauvrissement du matériel nucléaire semble porter d'abord sur la substance nucléolaire.



***Bryonia dioica* Jacq.**

FIG. 37. — Cellules nourricières à la fin de la formation des tétrades polliniques. Fixation au formol. G. : 1200.

Dans la figure 39, le noyau ne présente plus que quelques grains chromatiques épars et placés sur un réseau très fin et qui, quoique non coloré par l'hématoxyline, est très net. Quant aux nucléoles, ils n'existent plus à ce stade que comme de très petits points peu colorables, qu'on ne peut identifier nettement que par leur situation en dehors du réseau qui porte les grains chromatiques.

Les images que nous donnons ici ont une valeur générale et, dans toutes les autres espèces étudiées, on a pu observer les mêmes aspects de l'évolution du noyau. Ce

n'est guère qu'après l'appauvrissement en chromatine que se manifeste d'une façon sensible la diminution du volume nucléaire.

Nous voulons ici attirer l'attention sur un aspect particulier que nous avons observé dans l'une de nos préparations et qui nous paraît intéressant (fig. 40).

On peut se demander sous quelle forme le matériel chromatique est expulsé du noyau. On sait que divers auteurs considèrent comme « chromidies » des éléments figurés expulsés du noyau. La préparation représentée dans la figure 40 parle en faveur de ce fait.

Il s'agit ici d'une préparation fixée par le formol et l'acide trichloracétique et colorée à l'hématoxyline suivant la méthode de REGAUD. Dans de nombreuses cellules, nous avons observé, au voisinage immédiat du noyau, un certain nombre d'inclusions sidérophiles formant autour de lui une sorte de couronne. A l'intérieur du noyau, on n'observe aucune particule colorable par l'hématoxyline, mais seulement un très fin réseau non coloré. On est donc amené à envisager les inclusions circumnucléaires comme des « chromidies », correspondant à la chromatine expulsée sous forme figurée. En effet, ces formations ne sont pas des plastes. Leur forme est moins régulière, moins précise et d'ailleurs nous n'avons jamais observé de plastes dans les cellules nourricières de la Bryone. Ce ne sont pas non plus des vésicules graisseuses, car, partout où nous les avons observées, elles étaient localisées exactement à la périphérie du noyau alors que les vésicules graisseuses sont réparties dans toute la cellule (fig. 38). Il n'est donc pas absurde de les considérer comme expulsées par le noyau et destinées à se dissoudre ultérieurement dans le cytoplasme, car nous n'avons retrouvé rien d'analogue dans des préparations plus âgées. Nous n'avons observé cet aspect nulle part ailleurs au cours de nos recherches. Il faut le rapprocher d'une observation ana-



Bryonia dioica Jacq.

FIG. 38 et 39. — Cellules nourricières en cours de dégénérescence : chromatolyse. Fixation au Flemming ; *osm.* : inclusions osmioréductrices.

FIG. 40. — Cellule nourricière fixée au formol, à la période de chromatolyse ; *m.* : mitochondries ; *chr.* : chromidies (?) G. : 1200,

logue faite par MASCRÉ chez *Solanum tuberosum* L. Il y a donc lieu d'attirer l'attention sur ce point ; il se peut que l'expulsion des « chromidies » soit très rapidement suivie de leur dissolution dans le cytoplasme et l'on conçoit alors que leur existence étant de très courte durée, il soit difficile de les observer autrement que par hasard. Nous reviendrons sur ce point dans la Troisième Partie de notre travail (p. 77).

Les transformations du chondriome au cours de l'évolution des éléments polliniques sont tout à fait comparables à celles que nous avons observées dans les autres espèces : mitochondries et chondriocotes courts au début, puis grains mitochondriaux sans chondriocotes au moment de la formation des tétrades et apparition ultérieure de petits plastes amylières.

WAGNER [52] a observé les mêmes faits chez *Cucurbita Pepo* Duchartre, où il a observé d'autre part le rassemblement des chondriosomes (manteau chondriosomique) autour du noyau en division. Nous avons observé aussi quelquefois l'existence de celui-ci.

KIRKWOOD [22] avait observé dans les cellules mères de *Micrampelis* des corps en forme de bâtonnets ; il signale que ces éléments disparaissent ensuite et qu'il apparaît plus tard des corpuscules se colorant en noir ; il les considère comme provenant des fibres cytoplasmiques.

CASTETTER [3], chez *Cucumis sativus* L., a signalé les mêmes aspects et considère les corpuscules sidérophiles comme des nucléoles extranucléaires.

Il est probable que les bâtonnets et les corpuscules de KIRKWOOD et de CASTETTER correspondent : les premiers à des chondriocotes, les seconds à de petits plastes.

HEIMLICH [17] a observé, au début de la prophase méiotique, une zone périnucléaire avec mitochondries et nucléoles extranucléaires. GUILLIERMOND a signalé égale-

ment la présence d'un chondriome dans les cellules mères des grains de pollen et chez les grains de pollen de la Courge.

**Asparagus officinalis L.,
Saponaria officinalis, L., Primula
officinalis L.**

Les faits observés chez les espèces précédentes s'étant montrés identiques à quelques détails près, nous avons examiné plus rapidement quelques autres plantes. Nous nous sommes borné à l'examen de quelques moments de l'évolution. Nous avons ainsi examiné les étamines d'*Asparagus officinalis* L., *Saponaria officinalis* L., *Primula officinalis* L.

Nous serons très bref sur la description des phénomènes observés chez *Asparagus officinalis* L., déjà étudié par divers auteurs (LEWITSKY, WAGNER [52]). Il nous paraît intéressant cependant de signaler que nous avons observé spécialement les premiers cloisonnements de l'anthère et que l'origine des assises de la paroi et du tapis est identique à celle que nous avons donnée pour *Hemerocallis*.

A la fin de la période synaptique, la plupart des cellules du tapis sont déjà binucléées avec des noyaux très chromatiques.

L'évolution des cellules du tapis est parallèle à celle que nous avons observée chez l'Hémérocalles et, dans l'étamine adulte, les restes du tapis, parfaitement reconnaissables malgré la dissociation des cellules, sont absolument bourrés d'inclusions osmiophiles de nature grasseuse.

Quant à l'évolution du chondriome pollinique, nous n'avons pu que contrôler et confirmer les descriptions données par WAGNER [52] : grains et chondriocotes dans les cellules mères initiales, fragmentation des chondriocotes au moment de la formation des tétrades et réapparition ultérieure de chondriocotes et de petits plastes amylières.

Chez *Saponaria officinalis* L., l'évolution de l'assise nourricière du pollen est absolument typique. Le tapis devient vacuolaire et binucléé ; les deux noyaux peuvent persister côte à côte ou se fusionner, suivant les cellules. L'évolution du chondriome est conforme à ce que nous observons d'une façon générale, ainsi que les phases de dégénérescence. Cependant, il ne semble pas qu'il y ait, dans le tapis staminal de la Saponaire, de fortes accumulations grassieuses, du moins d'après les quelques pièces que nous avons examinées. Enfin, il faut signaler que, dans les cellules du tapis, au début de leur dégénérescence, la membrane qui borde la cavité pollinique est légèrement épaissie et marquée à la surface de fines ponctuations retenant l'hématoxyline, le violet cristal et la safranine.

Le *Primula officinalis* L. ne mérite pas davantage de description étendue. Il nous suffit de dire ici que l'évolution du tapis ne présente rien qui ne soit conforme aux descriptions déjà données. Le tapis est formé en divers points de deux assises de cellules. Les cellules nourricières deviennent binucléées après la synapsis et les noyaux ne paraissent se fusionner presque jamais. On observe, à des stades ultérieurs, les deux noyaux persistant côte à côte. En tous les points, la dégénérescence est conforme aux types décrits. La paroi de la cellule nourricière est intacte jusqu'à la maturité de l'anthère, mais elle reste mince.

Nous signalons, en passant, que certaines cellules de l'épiderme staminal et quelques cellules du connectif se distinguent par leur contenu riche en tanin et en albumine (Bichromate de potasse, Réactif de Milon). On retrouve donc, dans les tissus végétatifs de l'étamine, des cellules à contenu tannoalbuminoïdique, signalées par GORIS et MASCRÉ [8] dans les tissus végétatifs de *Primula officinalis* L. et qu'ils considèrent, par analogie avec les cellules à émulsine du Laurier-Cerise, comme le siège de la primevérosidase.

CHAPITRE III.

Dans cette troisième partie de notre travail, nous comparerons nos résultats à ceux qui ont été obtenus par d'autres auteurs et nous nous efforcerons de décrire quelle est d'une part l'évolution générale de l'assise nourricière du pollen ou tapis staminal et d'autre part, d'une façon d'ailleurs moins étendue, l'évolution des éléments polliniques, en ce qui concerne surtout le chondriome.

Disons de suite que, rapprochant nos résultats de ceux qu'ont obtenu d'autres auteurs, nous avons pu constater que l'évolution du tapis se fait partout, à très peu de chose près, de manière identique, étant donné que nous considérons seulement, dans cette étude, les tapis dits « sécréteurs » par opposition aux tapis désignés sous le nom de « tapis plasmodiaux ».

Evolution des cellules nourricières.

Dans l'évolution du tapis, on peut distinguer deux périodes. La première s'étend de la différenciation des divers tissus de l'anthère à partir du mamelon initial jusqu'à la séparation des jeunes grains de pollen. La deuxième période s'étend de ce moment à la maturité de l'anthère.

Origine du tapis. — Si l'on examine une anthère chez laquelle la différenciation des tissus est achevée, on constate que le sac pollinique présente la structure suivante.

Extérieurement il est limité par l'épiderme ; au centre, on observe le massif pollinique constitué par les cellules mères définitives et présentant tantôt la forme d'un massif arrondi (Hémérocalce, fig. 1) ; tantôt la forme d'un croissant plus ou moins arqué (Digitale, Campanule, fig. 25).

Le massif pollinique est complètement entouré d'une assise continue de cellules (assise généralement simple). Cette assise, présentant déjà des caractères bien particuliers, constitue l'assise nourricière ou tapis. Vers la région du connectif, le tapis est en contact immédiat avec les tissus végétatifs de celui-ci qui forment parfois (Digitale, Campanule) une saillie plus ou moins marquée à laquelle A. CHATIN a donné le nom de placentotide. Vers l'extérieur de l'anthere, on distingue entre l'épiderme et le tapis deux assises, quelquefois trois ou quatre (Digitale, Ancolie). La plus interne de ces assises est destinée à disparaître de bonne heure par écrasement et constitue l'assise transitoire. L'assise ou les assises sous-épidermiques persistantes formeront l'assise mécanique. Nous négligeons volontairement dans notre travail l'étude de ces deux assises.

La première question à examiner est celle de l'origine des cellules nourricières. Il y a lieu de distinguer à ce point de vue les cellules situées vers la région externe de l'étamine (tapis externe) et les cellules placées au contact du connectif (tapis interne).

Nous avons représenté, dans la figure 2, le schéma des cloisonnements qui donnent naissance au tapis. L'assise sous-épidermique, reconnaissable de bonne heure à son protoplasme plus abondant, se divise par une cloison péricle et la cellule la plus interne devient cellule mère pollinique primordiale ; la cellule externe constitue l'assise pariétale primordiale et de nouveau se divise en deux tangentiellement : la plus interne des cellules devient cellule nourricière, la plus externe constitue l'assise parié-

tales secondaires. Cette dernière se divise à son tour une fois au moins pour donner : vers l'intérieur l'assise transitoire et, vers l'extérieur, une ou plusieurs assises de cellules à partir desquelles se différenciera plus tard l'assise mécanique.

Dans toutes les espèces que nous avons étudiées, les cloisonnements se font dans le même ordre. Il se forme là, à partir de l'assise sous-épidermique, toute une série de cellules disposées en file radiale, dont la plus profonde, formée la première, est une cellule sporogène (cellule mère primordiale pollinique) et dont la seconde est une cellule nourricière.

Ce mode de cloisonnement paraît être très général chez les Angiospermes. Si de nombreux auteurs se contentent, sans plus de précision, de constater simplement que les cellules nourricières proviennent, comme les cellules polliniques, du cloisonnement tangentiel de la cellule sous-épidermique privilégiée, d'autres précisent l'ordre des cloisonnements, qui se montre identique à celui que nous avons décrit. C'est le cas, entre autres, de GUÉRIN, décrivant la formation de l'anthère chez les Labiées [10], de MASCRÉ, décrivant la formation des tissus staminaux chez les Solanées [29], les Borraginées [30], les Commelinacées [31] et l'*Arum maculatum* L. [35].

Quelques auteurs ont cependant admis que le tapis se forme par cloisonnement des cellules mères polliniques. Il en serait ainsi chez *Ranunculus* d'après COULTER [5], chez *Spiræa* pour WEBB [55], chez *Ulmus americana* d'après SHATTUCK [47], chez les Graminées d'après GOLINSKI [7], chez *Elodea canadensis* Rich., d'après WYLIE [57], chez *Sarracenia purpurea* L. d'après SHREVE [48], chez *Zostera marina* L., d'après ROSENBERG [44]. Il serait intéressant de reprendre l'étude de ces espèces afin de vérifier si ces observations sont exactes. C'est ce qu'a fait MASCRÉ pour les Graminées [29, page 63], chez

lesquelles il observe, contrairement à GOLINSKI, une origine du tapis identique à notre schéma. De même chez *Aquilegia*, qui appartient à la même famille que *Ranunculus*, nous avons constaté que le tapis dérive du premier cloisonnement de l'assise pariétale primordiale.

Quant aux cellules du tapis « interne », elles proviennent de la différenciation sur place de cellules végétatives banales du connectif, qui prennent bientôt, assez souvent avant même les cellules du tapis externe, les caractères propres au tapis que nous décrirons tout à l'heure.

Cette différence d'origine entre les éléments du tapis interne et du tapis externe est importante. Divers auteurs ont expliqué l'évolution particulière des cellules nourricières par leur étroite parenté avec les cellules sporogènes. Cette explication perd toute sa valeur quand on considère les cellules du tapis interne puisque celles-ci ont une origine nettement différente de celle des éléments polliniques.

MASCRÉ [29] a fortement insisté sur ce point et nous considérons comme lui que l'évolution particulière aux cellules nourricières est, à l'origine, physiologique. Cependant, dans un travail récent, Mademoiselle PY [42], reprenant l'hypothèse « d'une homologie entre les cellules nourricières et les tétraspoires, homologie provenant d'une identité primitive », voit dans l'identité de structure des parois du tapis et des parois du grain de pollen un argument en faveur de cette hypothèse. Nous reviendrons plus loin sur cette comparaison de la paroi du tapis et de la paroi du grain de pollen, mais, dès maintenant, nous considérons que cet argument n'est pas suffisant pour expliquer par une similitude d'origine le parallélisme que l'on observe en effet, à certains points de vue, entre l'évolution des cellules nourricières et celle des éléments polliniques. Car, s'il y a bien identité d'origine entre les cellules du tapis externe et les éléments polliniques, cette identité n'existe pas

pour le tapis interne et les éléments polliniques. Cependant, les cellules du tapis interne évoluent exactement comme celles du tapis externe et parfois même se différencient plus tôt, comme MASCRÉ [29] l'a observé chez les Solanées, et comme nous avons pu le constater quelquefois.

Cela ressort mieux encore si l'on considère le développement de l'anthère chez les Gentianées, d'après GUÉRIN [11, 12]. Chez divers *Gentiana* et chez *Swertia perennis* L., les cellules mères polliniques et, plus tard, les grains de pollen sont répartis au milieu de cellules stériles « parfois disposées en réseau et constituant un véritable tissu nourricier » qui évoluent à la manière habituelle, se montrant de très bonne heure, largement vacuolaires. Ces cellules évoluent de la même façon que les cellules provenant du cloisonnement de la paroi, qui existent en même temps chez certaines espèces comme *Gentiana lutea* L. Il en résulte que « chez les *Gentiana* et *Swertia*, il n'y a pas d'assise nourricière à proprement parler, les cellules mères du pollen se trouvant plus ou moins dispersées dans un abondant tissu stérile qui joue en réalité un rôle de nutrition.

En résumé, la différenciation si spéciale et la destinée si particulière des cellules nourricières nous paraissent devoir être expliquées : non par leur origine, mais par des conditions physiologiques particulières dues à leur position spéciale entre les éléments sexuels d'une part et, d'autre part, les cellules végétatives banales.

Différenciation des cellules nourricières. — Considérons maintenant l'évolution de la cellule nourricière depuis sa formation jusqu'à la période de séparation de jeunes grains de pollen. Elle atteint à ce moment sa différenciation maximum, mais c'est de très bonne heure qu'apparaissent les caractères qui lui sont spéciaux.

Si l'on considère les cellules nourricières dans une éta-

mine chez laquelle les cloisonnements viennent seulement de s'achever, on constate qu'elles présentent déjà des caractères très particuliers. Prenons comme exemple les cellules nourricières d'*Hemerocallis flava* L., représentées dans les fig. 3 et 4 et correspondant à une époque où les cellules mères polliniques, ne présentant encore aucun signe de contraction synaptique, achèvent ou viennent d'achever les cloisonnements qui donnent naissance aux cellules mères définitives. Ces cellules, très allongées dans le sens radial, se distinguent déjà des autres cellules de la paroi par leur volume (Hémérocalle, fig. 1 ; Campanule, fig. 25 ; Digitale, fig. 19). Dans le protoplasme abondant, creusé d'abord de petites vacuoles, apparaissent bientôt une ou deux grandes vacuoles aux contours très nets. Celles-ci sont localisées aux deux pôles de la cellule et compriment fortement le cytoplasme et le noyau. Il n'est pas rare que ce dernier soit déformé plus ou moins par cette compression ; lorsqu'il n'y a qu'une vacuole, celle-ci se trouve toujours localisée vers le massif pollinique, rejetant et comprimant le noyau vers la partie externe de la cellule.

Le noyau, à ce stade, est toujours beaucoup plus volumineux que celui des cellules de la paroi. Il est également très riche en chromatine, comme on peut s'en rendre compte par l'examen des fig 3 (Hémérocalle) et 36 (Bryone). Les masses chromatiques sont volumineuses et il existe généralement plusieurs nucléoles. Il est à noter que, malgré cette richesse en chromatine, ces noyaux, fixés au formol, ne laissent observer, en dehors des nucléoles, que des granulations plus ou moins volumineuses et plus ou moins serrées dont quelques-unes seulement retiennent, assez peu énergiquement d'ailleurs, l'hématoxiline (Hémérocalle, fig. 4 ; Campanule, fig. 28 et 29).

Dans le cytoplasme, le chondriome est représenté par

des mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets (chondriocotes) (Hémérocalle, fig. 4; Digitale, fig. 19). On y trouve également quelques grains osmioréducteurs : les microsomes.

Au moment où débute la contraction synaptique, on observe la division des noyaux du tapis. Nous avons toujours observé, comme nous l'avons dit au cours de notre travail, une concordance très précise entre les débuts de la période synaptique chez la cellule mère pollinique et la multiplication des noyaux chez la cellule nourricière. On aboutit ainsi à des cellules binucléées; quelquefois, les deux noyaux ainsi formés se divisent à leur tour et la cellule renferme quatre noyaux. Nous avons observé ces cellules tétranucléées chez l'Hémérocalle et surtout chez la Digitale et la Campanule. Ces divisions nucléaires sont absolument typiques et ne présentent aucune particularité. Elles ne présentent donc aucun caractère qui les rapproche de la première division si particulière du noyau de la cellule mère pollinique. Il arrive parfois que la division du noyau soit suivie de la division de la cellule, une cloison se formant entre les noyaux fils. On a alors deux cellules nourricières superposées, uninucléées. Ce fait est assez rare chez l'Hémérocalle, chez la Campanule, chez la Bryone ; il est assez fréquent chez la Digitale.

Il y a déjà longtemps que l'on a signalé la présence de noyaux multiples dans les cellules du tapis staminal. Parmi les premières observations, il faut citer celles de GUIGNARD [13] et de STRASBURGER. On peut dire que le fait a été retrouvé depuis par les divers auteurs à peu près chez toutes les espèces étudiées à ce point de vue. Cependant, on connaît des exemples de cellules nourricières uninucléées, celles de l'*Orchis mascula* L. et du *Neottia ovata*, signalées par GUIGNARD [13] celles de divers *Gentiana*, étudiées par GUÉRIN [11 et 12] et nous avons nous-même montré dans ce travail que les cellules du tapis

restent uninucléées chez l'*Aquilegia vulgaris* L.. Quoi qu'il en soit, ce noyau unique se différencie toujours du noyau des assises pariétales par son volume plus considérable et sa richesse plus grande en chromatine.

BONNET [2] a établi définitivement l'existence de fusions ultérieures entre les noyaux multiples nés par le processus que nous venons de décrire. Le fait a été confirmé par MASCRÉ chez les Solanées [29] et les Borraginées [30] et nous l'avons observé couramment. Nous avons représenté plusieurs images correspondant à ces phénomènes de fusion nucléaire : fig. 7 (Hémérocalles), fig. 30 et 31 (Campanule). Ces images de fusion avaient été autrefois considérées comme correspondant à des phénomènes d'amitose. Il est évident qu'au premier examen, les aspects comme ceux que nous avons représentés dans la figure de droite de la figure 7 et dans la figure 31, peuvent conduire à cette interprétation. Après les nombreux faits signalés par BONNET et par MASCRÉ, après ceux que nous apportons nous-même ici, on ne peut plus douter de l'ordre exact des phénomènes : division indirecte typique du noyau et fusion ultérieure, souvent réalisée, des noyaux multiples.

Cette fusion des noyaux se réalise sensiblement à l'époque de la formation des tétrades et de la libération des jeunes grains de pollen. Elle est très généralement achevée à ce moment. Il y a lieu d'ailleurs de signaler que le phénomène n'est pas absolument général chez toutes les cellules et que l'on peut observer à ce point de vue, dans le tapis d'une étamine dont les jeunes grains de pollen viennent d'être libérés, tous les stades possibles. Si l'on considère, par exemple, les figures 20 et 21 se rapportant à la Digitale, on distinguera dans des cellules voisines tantôt quatre noyaux, tantôt deux noyaux, résultant de la fusion deux à deux de quatre noyaux préexistants, tantôt un noyau unique et particulièrement volumineux provenant de la fusion de quatre noyaux ; on trouvera un autre

exemple de noyau provenant évidemment de la fusion de quatre noyaux préexistants dans la figure 30 (Campanule). On peut considérer qu'on a affaire suivant les cas à des noyaux « univalents », « bivalents » ou « tétravalents ». En tout cas, après la séparation des jeunes grains de pollen, ces phénomènes de division et de fusion sont achevés. On observera, par exemple, dans la figure 23 (Digitale), deux cellules nourricières âgées, dont l'une possède encore ses quatre noyaux.

BONNET [2] et MASCRÉ [29] ont constaté dans divers cas, chez les noyaux polyvalents ou polydiploïdes, l'existence de cinèses tardives caractérisées par le nombre considérable des chromosomes.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer d'images correspondantes.

En même temps que se déroulent les phénomènes nucléaires que nous venons de décrire, des modifications apparaissent dans le cytoplasme et chez le chondriome.

A la période synaptique, nous avons vu qu'il existe dans la cellule soit une très grande vacuole (Campanule, fig. 29), soit deux vacuoles situées aux deux pôles de la cellule (Hémérocalle, fig. 4 ; Digitale, fig. 20). Vers la période de formation des tétrades, cet aspect se modifie : les grandes vacuoles se fragmentent en vacuoles plus petites et l'expérience montre que, lorsqu'il existe deux vacuoles, c'est toujours la vacuole placée vers la cavité pollinique qui se transforme la première (Hémérocalle, fig. 8).

On ne peut s'empêcher de faire un rapprochement entre ce fait et ceux qu'a étudiés récemment MANGENOT [28] chez les cellules épidermiques des glandes de *Drosera* et de *Brosophyllum* et chez certaines cellules épidermiques de feuilles d'*Oxalis Acetosella* L. contiguës à des plages nécrosées. Il signale chez ces diverses cellules des phéno-

mènes de fragmentation des vacuoles (phénomènes d'« aggrégation ») qui, par leur dissymétrie, « traduisent l'existence d'un courant liquide traversant les cellules ainsi transformées et se dirigeant de l'extérieur vers l'intérieur ». La transformation des grandes vacuoles du tapis en vacuoles plus petites coïncide toujours avec la période d'excrétion de liquide vers la cavité pollinique et, débutant toujours par la vacuole située vers la cavité de l'anthère, présente, malgré quelques différences secondaires, des analogies évidentes avec les faits signalés par MANGENOT.

D'autres modifications apparaissent chez le chondriome. Il était représenté, comme nous l'avons vu, chez les jeunes cellules nourricières par des mitochondries et des chondriocontes, généralement assez courts. Si l'on observe maintenant le chondriome du tapis à la période de séparation des grains de pollen, on constate que les chondriocontes ont plus ou moins complètement disparu et que la cellule renferme de petites vésicules qui sont des plastes. Ceux-ci sont toujours petits. Ils ont en général une forme elliptique plus ou moins allongée. Ils se montrent, vis-à-vis des fixateurs, beaucoup plus résistants que les chondriocontes. C'est ainsi que, dans la figure 6 (Hémérocalce), nous les retrouvons, après fixation au liquide de BOUIN, avec le même aspect que dans les pièces traitées au formol (fig. 8).

A côté de ces petits plastes, on retrouve toujours quelques chondriocontes non modifiés ou à peine modifiés et des grains mitochondriaux. Il n'est donc pas douteux que les chondriocontes des stades précédents se sont transformés presque tous en plastes. Ils se sont simplement renflés en leur partie centrale et cette transformation est particulièrement nette chez les figures qui se rapportent à l'*Aquilegia vulgaris* L. (fig. 15, 16 et 17).

Si l'existence de chondriocotes est constante chez les cellules du tapis au cours de leur différenciation, on peut observer certaines différences en ce qui concerne le moment où ils apparaissent. En général, on observe jusqu'aux environs du stade synapsis des bâtonnets courts et, au cours de la période synaptique, apparaissent des chondriocotes plus allongés. C'est ce que nous avons observé et c'est ce que Mademoiselle PY [42] a signalé de son côté chez *Helleborus foetidus* L., chez *Euphorbia Peplus* L. et *Euphorbia Sauliana* Bor.. Par contre, MASCRÉ [29], chez les Solanées, observe les chondriocotes à un stade plus avancé de l'évolution. Chez la Bryone, il n'existe plus de chondriocotes dans la cellule nourricière adulte.

On doit se demander maintenant quelle est la nature de ces plastes et plus particulièrement si l'on a affaire à des amyloplastes. D'une façon générale, les divers auteurs qui ont étudié le tapis staminal sont d'accord pour affirmer qu'il ne se forme pas d'amidon dans les cellules nourricières du pollen. Seul, MASCRÉ [29] signale l'existence de petits grains d'amidon dans les cellules nourricières du pollen chez les Solanées et les Borraginées, mais il écrit à ce sujet : « l'amidon n'existe jamais que sous forme de très petits grains assez peu nombreux, souvent nettement rassemblés autour du noyau. Il ne manque pas d'ailleurs de cellules dont l'amidon demeure absent. Il ne constitue donc qu'une faible réserve nutritive et doit être considéré comme amidon transitoire. Contrairement à nous, GUILLIERMOND n'a pas trouvé d'amidon dans le tapis staminal de l'Iris ou de la Tulipe. Son existence est absolument certaine dans tous les végétaux que nous avons étudiés, mais il persiste peu de temps ». Il écrit encore [30] : chez les Borraginées, « les grains d'amidon sont toujours très petits et de peu de durée ». Nous avons donc apporté un soin tout particulier à la recherche de l'amidon dans

les cellules du tapis. Nous n'avons pu observer que très rarement l'existence dans le tapis de très petits grains d'amidon au moment où apparaissent les plastes. On conçoit donc que l'existence de grains d'amidon puisse, en raison de leur petitesse et de leur faible durée, passer inaperçue et il est fort possible qu'il n'existe à aucun moment chez certaines espèces. Nous dirons donc que l'amidon n'existe chez le tapis — quand il existe — qu'en très petite quantité et très peu de temps ; il y apparaîtrait alors au moment de la transformation des chondriocotes en plastes et ne jouerait certainement aucun rôle important dans le métabolisme dont la cellule nourricière est le siège.

Les plastes que nous avons observés sont, suivant les espèces, plus ou moins volumineux. On comparera à ce point de vue les divers dessins de notre thèse.

Leur rôle est absolument obscur. Divers auteurs : GUILLIERMOND, Mademoiselle PY, leur donnent le nom de protéoplastes. Il semble bien en effet qu'ils soient constitués par des inclusions protéiques. En tout cas, leur rôle nous paraît être sans importance spéciale, car on verra qu'ultérieurement on retrouve dans les cellules du tapis en dégénérescence les plastes et les grains mitochondriaux.

Les cellules du tapis qui, sous la réserve que nous avons faite plus haut, n'élaborent pas d'amidon, deviennent au contraire toujours très riches en matières grasses. C'est aux environs de la séparation des grains de pollen que commence l'accumulation de ces substances. Jusqu'au début de la méiose, il n'existe dans les cellules du tapis que de petites granulations osmioréductrices, qui sont des microsomes banaux, puis il apparaît plus ou moins rapidement des grains plus nombreux et plus volumineux. Nous n'avons pu établir aucun rapport précis entre le chondriome et ces inclusions grasses. Nous avons bien observé, dans de jeunes cellules, quelques grains gras-

sur le trajet de chondriocotes, mais, pour les inclusions un peu volumineuses, nous n'avons pu mettre en évidence aucun rapport entre elles et le chondriome. Il n'existe pas d'écorce colorable par les méthodes mitochondriales autour des globules gras. Ceux-ci semblent donc se former directement au sein du cytoplasme. Peut-être le dépôt de matières grasses se fait-il au niveau de certains microsomes privilégiés. En tout cas, nous avons vu que des grains osmioréducteurs et colorables par le mélange « Nadi » (microsomes) coexistent avec les grosses inclusions lipocarotinoïdes.

Dégénérescence des cellules nourricières. — Telle que nous venons de la décrire, la cellule nourricière du pollen a atteint le maximum de sa différenciation ; après la formation des jeunes grains de pollen, elle se trouve placée dans des conditions nouvelles. En effet, jusqu'ici, les cellules du tapis étaient en contact étroit avec le massif pollinique ; à la formation des tétrades, les éléments polliniques se séparent les uns des autres et l'on observe bientôt les jeunes grains de pollen libres au milieu de la cavité staminale. Celle-ci se trouve remplie à ce moment d'un liquide abondant. Ce dernier provient évidemment des cellules du tapis et c'est aux débuts de son apparition qu'a lieu la fragmentation des vacuoles que nous avons signalée plus haut. Tout se passe comme si les cellules nourricières avaient accumulé dans leurs vacuoles une solution de principes divers qui, à ce moment, la pression exercée par le massif pollinique cessant, filtre à travers la paroi et remplit la cavité staminale. Placé dans ces nouvelles conditions, le tapis va subir des modifications de structure correspondant à sa dégénérescence. Nous exposerons successivement ce qui se rapporte à l'évolution des noyaux, du cytoplasme, du chondriome et des plastides, des inclusions graisseuses et nous terminerons par l'étude des modifications que subit la paroi des cellules.

Les noyaux vont diminuer de volume et perdre leur chromatine. On observera très bien la diminution du volume en comparant le volume respectif des noyaux dans les figures 9, 10 et 11 qui se rapportent à l'Hémérocalle, dans les figures 30 et 32 chez la Campanule. Il y a diminution graduelle du volume. Il est à noter qu'au début de la dégénérescence de la cellule, les noyaux présentent assez souvent des formes plus ou moins amiboïdes, qui ont été interprétées autrefois, en particulier par TISCHLER [51] ou par Madame JACOBSON PALEY [20] comme correspondant à une activité particulière du noyau. Il nous paraît plus raisonnable d'y voir, avec MASCRÉ [29], une conséquence du brassage dont le protoplasme est le siège à ce moment. Ces aspects amiboïdes sont d'ailleurs de peu de durée.

L'appauvrissement en chromatine ressort très nettement des figures 7, 10 et 11 (Hémérocalle) et des figures 33 et 39 (Bryone). On les rapprochera des figures de BONNET [2] et des figures de MASCRÉ [29]. Les noyaux de la cellule adulte, fixée au liquide de FLEMMING, montrent toujours des masses chromatiques volumineuses, entre lesquelles on distingue un réseau lininien (fig. 36). A des stades plus avancés, au début de la dégénérescence (fig. 38) les masses chromatiques se montrent moins abondantes ; peu à peu les particules chromatiques deviennent moins volumineuses et l'on n'observe plus (fig. 39) que quelques grains sur le trajet du réseau lininien. Chez les noyaux des cellules très âgées, on n'observe plus que très peu de granulations sidérophiles, elles peuvent même disparaître complètement. En même temps, les nucléoles ont diminué de volume et deviennent plus difficilement colorables par l'hématoxyline.

Tout se passe comme s'il y avait dissolution de la chromatine, qui diffuserait alors dans le cytoplasme. C'est ce que nous avons désigné, sous le nom de « lessivage chro-

matique » expression employée antérieurement par BONNET [2], puis par MASCRÉ [29] et qui nous paraît bien convenir aux phénomènes observés. Le terme de « chromatolyse » peut également être employé. Nous verrons dans un instant ce qu'il faut penser de l'expulsion de la chromatine sous forme figurée (chromidies).

Les noyaux des cellules très âgées se présentent généralement sous forme d'une très petite vésicule, à l'intérieur de laquelle il n'existe plus de structure reconnaissable ; on y observe seulement, quelquefois, un très petit nombre de grains colorables, dont on ne peut dire s'ils correspondent aux restes du nucléole ou à des restes de chromatine.

Dans tous les cas étudiés par nous, c'est toujours de cette manière que s'effectue la dégénérescence du noyau. Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer d'images de pycnose ou de caryorhexis comme celles qu'ont observées, dans plusieurs espèces, BONNET et MASCRÉ.

Il semble que la chromatine des noyaux adultes, dissoute d'abord dans le suc cellulaire, passe ensuite dans le cytoplasme, en filtrant à travers la membrane nucléaire, toujours très nette. Ceci nous amène à examiner la question des « chromidies ». On sait que l'on désigne, sous ce nom, des éléments figurés représentant la chromatine expulsée du noyau. De tels éléments ont été signalés chez les cellules du tapis par divers auteurs. C'est ainsi que TISCHLER [49] en a décrit dans les cellules nourricières de divers *Ribes* et chez *Syringa chinensis*. BONNET [2] a décrit quelque chose d'assez analogue sous le nom de formations chromidiales. MASCRÉ [29] a montré qu'il fallait être prudent à ce point de vue, afin d'éviter de confondre des éléments du chondriome mal fixés avec des inclusions figurées d'origine nucléaire. Or, nous avons rencontré chez la Bryone, localisés autour du noyau, des corpuscules sidérophiles qu'on ne peut confondre avec les éléments du chondriome et du plastidome et que l'on pour-

rait raisonnablement considérer comme des chromidies, leur apparition correspondant exactement à la fin du lessivage chromatique. Nous avons rapproché ce fait de l'observation d'éléments analogues, faite par MASCRÉ [29] chez *Solanum tuberosum* L. et pour lesquels il admet, avec réserve, une origine nucléaire possible. Ces deux observations laissent donc supposer que la substance chromatique et la substance nucléolaire pourraient être expulsées du noyau sous forme figurée, mais ne sauraient être observées que rarement sous cette forme, à cause de leur dissolution rapide au sein du cytoplasme. Il serait intéressant de mettre en évidence des faits analogues chez d'autres espèces.

Dans le cytoplasme, nous avons insisté sur la fragmentation des vacuoles au moment de la sécrétion du liquide staminal. Nous avons rapproché ce fait des phénomènes de fragmentation vacuolaire observés par MANGENOT dans les cellules des glandes de *Drosera* et de *Drosophyllum* (p. 71). Lorsque cette fragmentation est achevée, le cytoplasme apparaît creusé de nombreuses vacuoles de volume très inégal, très nettement observables après fixation au formol et présentant naturellement des contours moins nets après fixation au liquide de Flemming (figure 9, figure 23). En même temps, le cytoplasme devient grossièrement granuleux.

Le chondriome se présente dans les cellules en cours de dégénérescence très sensiblement identique à ce qu'il était chez la cellule adulte. On retrouve les mitochondries, les petits plastes protéiques observés antérieurement et parfois quelques chondriocentes qui n'ont pas subi la transformation en plastas. C'est en raison de cette persistance sans aucun changement des « protéoplastes » que nous avons considéré ceux-ci comme ne jouant aucun rôle important dans l'évolution de la cellule. MASCRÉ [29] avait observé, dans le tapis âgé des Solanées, des formations

« spiraloïdes » qu'il expliquait par le gonflement et l'éclatement des chondriocotes. Nous n'avons rien observé de semblable, aussi existe-t-il à ce point de vue quelques différences entre les Solanées et les espèces que nous avons étudiées. Cela s'expliquerait par le fait que, chez les Solanées en général, il ne se forme pas de plastes proprement dits bien développés. On n'y trouve guère que des chondriocotes ne poursuivant pas, sauf un très petit nombre, leur transformation en plastes différenciés. Au contraire, chez les espèces que nous avons étudiées, nous avons toujours, sauf chez la Bryone, trouvé chez la cellule adulte des plastes proprement dits. Chez la Bryone, nous avons vu qu'au moment de la formation des tétrades le chondriome n'est plus représenté que par des grains, alors que des chondriocotes existaient au stade synaptique. Ceci montre que, au point de vue de l'évolution du chondriome de la cellule du tapis staminal, il existe chez les diverses espèces végétales quelques différences. Enfin, on a vu, au cours de nos descriptions, que, chez toutes les espèces étudiées, il apparaît de bonne heure dans le tapis des inclusions graisseuses, sous forme de corpuscules sphériques, qui deviennent de plus en plus abondants et de plus en plus volumineux, à mesure que l'évolution se poursuit. Il existe de petites différences, en ce qui concerne l'abondance relative de ces inclusions, mais on peut considérer comme un caractère très général des cellules nourricières du pollen, leur aptitude, au cours de leur dégénérescence, à élaborer de fortes quantités de matières grasses. Nous avons montré que, chez l'Hémérocalle et la Campanule, ces corpuscules graisseux sont imprégnés de pigments carotinoïdes, dont l'existence dans l'étamine a été démontrée par BERTRAND et POIRAULT [4].

Lorsque l'étamine a poursuivi son développement complet, lorsque le pollen est mûr et que l'assise mécanique est différenciée, on retrouve toujours les restes du tapis,

sous forme de cellules bourrées d'inclusions graisseuses, au milieu desquelles on peut parfois reconnaître encore les restes du noyau.

Evolution de la paroi des cellules nourricières. —

Il nous reste à envisager l'évolution de la paroi des cellules nourricières.

Les parois de la cellule nourricière sont toujours, à l'origine, minces et cellulosiques. Plus tard, la paroi orientée vers la cavité staminale subit souvent des transformations consistant en un épaississement et une sorte de cutinisation ou de subérisation. MASCRÉ [29] est le premier qui ait attiré l'attention sur ce point. Chez diverses Solanées, des colorations, faites par la safranine ou le violet cristal, montrent que cette paroi se colore sensiblement comme les vaisseaux de bois du connectif ou les bandes d'épaississement de l'assise mécanique. Un examen attentif met en évidence l'existence de ponctuations placées à la surface de la membrane, ponctuations plus ou moins marquées, selon les espèces, et se colorant comme les ponctuations que l'on observe au même moment à la surface du grain de pollen. Il conclut à une « cutinisation » de la paroi. Des observations analogues ont été faites par d'autres auteurs, en particulier par SCHNARF [45] chez un certain nombre d'espèces et par KOSMATH [23] qui les décrit longuement chez *Magnolia Youlan* Desf., par KJRATCHENKO [24] chez *Lilium croceum* Chaix et par Mlle PY [42] chez *Helleborus foetidus* L.. Personnellement, nous avons parfaitement observé cette transformation de la paroi chez l'Hémérocalle, chez l'Ancolie et chez la Campanule. Nous avons observé un épaississement sans ponctuations nettes chez la Digitale. Par contre, chez la Bryone, où, comme nous l'avons vu, la cellule adulte ne renferme que des grains mitochondriaux sans chondriocotes ni plastes, la paroi de la cellule reste mince.

La nature chimique de ces ponctuations a donné lieu à quelques discussions. MASCRÉ [29] les considère comme cutinisées ou lignifiées. KRJATCHENKO [24] les considère comme formées de substances grasses. Mademoiselle PY [42] a longuement étudié l'action de divers réactifs sur ces granulations et conclut que « de leurs colorations et de leur grande résistance aux acides et à la potasse, caractères communs aux ornements des cellules nourricières, à la membrane des grains de pollen et aux parties lignifiées des vaisseaux, il semble possible d'inférer que les premières sont constituées par une substance qui n'est ni de la cutine, ni de la lignine, mais en est très voisine et se comporte vis-à-vis des réactifs comme l'enveloppe des grains de pollen ». C'est à cette opinion, au fond peu différente de celle de MASCRÉ, que nous nous rangerons.

KRJATCHENKO [24] considère que ces corpuscules de la paroi sont élaborés par le chondriome de la cellule. Nous n'avons rien observé dans nos préparations qui permette de soutenir cette opinion.

Cette transformation de la paroi est évidemment curieuse. MASCRÉ [35] fait remarquer que l'évolution du tapis staminal vers le type sécréteur ou vers le type plasmodial semble liée à l'évolution de la paroi cellulaire qui se cutinise et s'épaissit dans le premier cas, alors que, dans le cas des tapis plasmodiaux des Commelinacées et de l'*Arum maculatum*, qu'il a étudiés, la paroi de la cellule nourricière se transforme en mucilage.

Mademoiselle PY [42] se demande « si l'apparition de ces ornements n'est pas due à la manifestation d'homologie entre les cellules nourricières et les tétraspores, homologie provenant d'une identité primitive ». Nous ne pouvons accepter l'hypothèse de Mlle PY. Nous avons, en effet, insisté longuement sur le fait que cette homologie n'existe pas entre les cellules du tapis « interne » et les

éléments polliniques. Nous pensons que la cause de cette similitude entre l'évolution de la paroi chez les cellules nourricières et chez les grains de pollen doit être cherchée dans le fait qu'elles sont, les unes et les autres, au contact du même liquide staminal.

Evolution des éléments polliniques.

Chez le pollen, nous avons étudié l'évolution du chondriome et les faits que nous avons observés sont partout très comparables.

A la période présynaptique, les cellules mères primordiales renferment des grains mitochondriaux et des chondriocotes. Ceux-ci sont représentés : soit par des bâtonnets courts (Digitale, Campanule, Bryone), soit par des éléments un peu plus allongés (Hémérocalce, Ancolie).

Dans tous les cas, pendant la période qui s'étend de la synapsis à la fin de la formation des tétrades, les chondriocotes et les bâtonnets disparaissent plus ou moins rapidement, de sorte que l'on ne trouve généralement, lorsque les tétrades sont formées, que des grains mitochondriaux. La fragmentation des chondriocotes, constamment observée par WAGNER [52], au cours de ses recherches, est donc un fait bien établi.

Dans les jeunes grains de pollen, on observe de petites vésicules identiques aux mitochondries vésiculeuses de WAGNER, mais aussi des chondriocotes, qui sont particulièrement nets chez la Digitale. Dans le jeune grain de pollen, au stade de la grande vacuole, on observe particulièrement bien ces éléments : grains, chondriocotes et vésicules, sur la Campanule (fig. 34). Ce n'est guère qu'au cours de la résorption de cette grande vacuole que l'amidon apparaît dans le grain de pollen. A partir de ce moment, les grains d'amidon deviennent plus volumineux et plus

nombreux et l'on a vu qu'ils sont très abondants, toujours, dans le grain de pollen adulte.

L'apparition de substances grasses dans le grain de pollen précède celle de l'amidon.

Nous n'avons jamais observé avec netteté le manteau mitochondrial, ni la plaque mitochondriale signalée par WAGNER [52] et d'autres auteurs. Ceci n'est pas un argument contre l'existence réelle de ces formations, dont l'existence nous paraît incontestable, d'après les travaux de nos devanciers. Il ne nous paraît pas douteux que des préparations plus nombreuses nous auraient permis de retrouver ces images.

La filiation des différentes formes de chondriome offre quelques points intéressants à étudier. Il serait intéressant d'établir surtout comment réapparaissent dans le jeune grain de pollen, en même temps que les petits plastes, les chondriocotes que nous y avons observés et que l'on retrouve, à côté des grains d'amidon, dans le grain de pollen adulte. L'intérêt de cette question est parfaitement indiqué par WAGNER [53]. Cet auteur admet « que dans certains stades du développement des cellules mères des grains de pollen chez les Angiospermes, les chondriosomes peuvent se former « de novo » dans le cytoplasme ». Cependant, il ne peut apporter de preuve complète de cette formation. Nous avons examiné avec soin, à ce point de vue, nos préparations et, pas plus que WAGNER, nous n'avons trouvé de preuve décisive en faveur de son opinion, qui nous paraît cependant très admissible.

CHAPITRE IV.

Conclusions générales

En poursuivant notre travail, nous nous proposons, par l'observation de quelques espèces non étudiées encore, de vérifier si l'évolution de l'assise nourricière du pollen ou tapis staminal s'accomplissait chez les Angiospermes de façon uniforme. Toutes les espèces que nous avons étudiées possèdent un tapis du type sécréteur, dont les éléments persistent, sans se fusionner, jusqu'à maturité de l'étamine.

Nos recherches ont porté sur huit espèces et la comparaison de nos résultats avec ceux des auteurs qui nous ont précédé permet de conclure que, à des détails secondaires près, l'évolution du tapis staminal chez les Angiospermes est partout la même.

L'origine de ce tapis est double. D'une part, il est constitué d'éléments formés par la deuxième division de l'assise sous-épidermique, la première ayant donné les éléments polliniques primordiaux ; d'autre part, il se complète par les cellules du connectif, qui évolueront comme les précédentes. Ce fait doit faire écarter définitivement l'hypothèse d'après laquelle certains caractères des cellules nourricières s'expliqueraient par une homologie d'origine avec les cellules mères polliniques.

Jusqu'à la fin des divisions de maturation, les cellules du tapis subissent les modifications suivantes : vacuolisation considérable du cytoplasme et multiplication des noyaux, liés à une nutrition surabondante. Il est rare qu'il n'y ait pas plusieurs noyaux, deux au moins, dans les cellules nourricières. On n'en observe cependant qu'un seul chez *Aquilegia vulgaris* L., *Orchis mascula* L. et *Neottia ovata* (GUIGNARD), et divers *Gentiana* (GUÉRIN). Le plus souvent, les noyaux multiples de la cellule nourricière se fusionnent. Le chondriome de la cellule adulte est constitué par des grains mitochondriaux et des chondriocontes. A la fin de cette période seulement, commencent à apparaître les plastes.

Il est remarquable que la cellule adulte ne renferme qu'exceptionnellement un très petit nombre de petits grains d'amidon.

Après la séparation des jeunes grains de pollen, la cavité staminale se remplit d'un liquide abondant, sécrété par les cellules du tapis. Au début de cette sécrétion, on observe la fragmentation des grandes vacuoles de la cellule nourricière adulte. Dans celle-ci s'accumulent, dès ce moment, de nombreuses et volumineuses inclusions graisseuses plus ou moins imprégnées de pigments carotinoïdes. Il ne semble pas que ces graisses passent directement dans la cavité staminale, dans nos préparations. Leur existence dans le liquide extrait des anthères s'explique par les lésions que l'on fait subir à celles-ci.

Les plastes persistent sans modifications et ne paraissent pas jouer de rôle particulier au cours de l'évolution du tapis.

Les noyaux disparaissent peu à peu par contraction et lessivage chromatique. Peut-être y a-t-il dans certains cas (Bryone), expulsion sous forme figurée (chromidies) du matériel nucléaire.

La paroi des cellules nourricières, dans de très nom-

breux cas, subit un épaississement et une sorte de cutinisation. Cette transformation de la paroi s'oppose aux faits de fusion entre les cellules, tels qu'on les observe chez les tapis plasmodiaux.

Dans l'étamine mûre, nous avons toujours reconnu la présence de cellules flétries, de volume très réduit, ayant conservé leur paroi intacte et renfermant encore des inclusions graisseuses.

Il y a, sans aucun doute, dans la première période de leur évolution, accumulation de substances nutritives dans les cellules du tapis et, après la libération des jeunes grains de pollen, excrétion d'un liquide nourricier. Les fonctions d'élaboration, chez la cellule nourricière, paraissent réduites à la formation de matières grasses.

La forme sous laquelle les substances nutritives se trouvent dans le liquide staminal ne pourrait être déterminée que par l'étude chimique directe de celui-ci.

Chez le grain de pollen, nous avons suivi l'évolution du chondriome. Quoique nos observations, à ce point de vue, ne soient pas absolument complètes, nous avons pu mettre en évidence, contrôlant et complétant ainsi les recherches antérieures, les phénomènes suivants.

Dans les cellules mères primordiales et définitives, le cytoplasme est finement et régulièrement vacuolaire et renferme des grains et des chondriocotes. Au cours des divisions de maturation, les chondriocotes disparaissent par fragmentation et il n'existe plus que des grains. Dans le pollen jeune réapparaissent des chondriocotes en même temps que de petits plastes. Le cytoplasme, d'abord creusé d'alvéoles régulières, est plus tard appliqué contre la paroi, limitant au centre du grain une grande vacuole ; dans le cytoplasme pariétal, on observe des grains mitochondriaux, des chondriocotes et de petits plastes, dans lesquels l'amidon commence à apparaître. Puis la grande vacuole se résorbe et le grain de pollen mûr apparaît bourré de

grains d'amidon et d'inclusions grassieuses ; on distingue dans le cytoplasme, entre les grains d'amidon, des mitochondries et de courts chondriocotes. Il apparaît comme très probable que la grande vacuole des jeunes grains ^{de pollen} d'amidon renferme des substances nutritives (sucres), qui sont peu à peu incorporées et transformées par la cellule. Dans l'évolution du grain de pollen, la formation des substances grassieuses précède toujours celle des grains d'amidon.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. BERTRAND (G.) et POIRAULT (G.). — Sur la matière colorante du pollen. *C. R. Ac. Sc.*, 1892, **115**, 828.
2. BONNET (J.). — Recherches sur l'évolution des cellules nourricières chez les angiospermes. *Archiv. für Zellforschung*, 1912, **7**, 605-722.
3. CASTETTER (E. F.). — Cytological studies in the Cucurbitaceæ. I. Microsporogenesis in *Cucurbita maxima*. *Americ. Journ. Bot.*, 1926, **13**, 1-10.
4. CHATIN (A.). — De l'anthère. Paris, 1870.
5. COULTER. — Contribution to the life history of *Ranunculus*. *Botan. Gaz.*, 1898, **25**, 73.
6. FULLMER (E. L.). — The development of the microsporangies and microspores of *Hemerocallis fulva*. *Botan. Gaz.*, 1899, **33**, 81.
7. GOLINSKI. — Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Androcœums der Gräser. *Botan. Centralbl.*, 1893, **55**, 1-17, 65-72, 129-131.
8. GORIS (A.) et MASCRÉ (M.). — Recherches chimiques et biochimiques sur les Primulacées, en particulier sur la racine de *Primula officinalis* Jacq. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1909, **16**, 695.
9. GUÉRIN (P.). — Sur l'étamine et le développement du pollen des Sauges. *C. R. Ac. Sc.*, 1917, **165**, 1009.
10. GUÉRIN (P.). — Développement de l'anthère et du pollen des Labiées. *C. R. Ac. Sc.*, 1919, **168**, 182.
11. GUÉRIN (P.). — Le développement de l'anthère et du pollen chez les Gentianes. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **179**, 1620.

12. GUÉRIN (P.). — L'anthere des Gentianacées. Développement du sac pollinique. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, 852.
13. GUIGNARD. — Recherches sur le développement de l'anthere et du pollen des Orchidées. *Ann. Sc. nat. (Bot.)*, 1882, 6^e sér., **14**.
14. GUIGNARD. — Nouvelles études sur la fécondation. *Ann. Sc. nat. (Bot.)*, 1891, 7^e sér., **14**.
15. GUILLIERMOND. — Sur les mitochondries des organes sexuels des végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1912, **154**, 888.
16. GUILLIERMOND. — Sur l'évolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen de *Lilium candidum*. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 1003.
17. HEIMLICH (L. F.). — Microsporogenesis in *Cucumis sativus*. *La Cell.*, 1929, **39**, 7-24.
18. HOFMEISTER (W.). — Neuere Beobachtungen über Embryobildung der Phanerogamen. *Jahr. Wiss. Bot.*, 1865, **1**, 82-188.
19. HOMEDES (J.). — Datos para una interpretacion endocrina de las celulas de tapiz de los sacos polinicos. *Bull. Soc. esp. Hist. nat.*, 1928, **28**, 315.
20. JACOBSON PALEY. — Le periplasmodium dans les anthères de l'*Arum maculatum* L. *Bull. Soc. bot. Genève*, 1920, **12**, 306.
21. KIRKWOOD (J. E.). — The pollen tube in some of the Cucurbitacæ. *Bull. Torrey Bot. Club*, 1906, **33**, 327-342.
22. KIRKWOOD (J. E.). — Some features of pollen formation in the Cucurbitacæ. *Bull. Torrey Bot. Club*, 1907, **34**, 221-242.
23. KOSMATH (L.). — Studien über das Antherentapetum. *Oesterreich. Botan. Zeitschr.*, Heft 3, Jahrg. 76, 1927, 235.
24. KRJATCHENKO (D.). — De l'activité des chondriosomes pendant le développement des grains de pollen et des cellules nourricières du pollen dans *Lilium croceum* Chaix. *Rev. gen. Botan.*, 1925, **37**, 193.
25. KRUPKO (S.). — Les plastides et le chondriome pendant la gonogénèse dans le *Gagea lutea* L. *Acta Societ. Botan. Polon.*, 1926, vol. 4, n° 1, 77.

26. LEWITSKY. — Ueber die Chondriosomen in pflanzlicher Zellen. *Ber. d. deutsch. Bot. Gesell.*, 1910 **28**, 538.
27. MAHESHWARI (P.). — Contributions to the morphology of *Boerhaavia diffusa*. *Journal of the Indian Botanical Society*, 1929, vol. 8, n° 4, 219-234.
28. MANGENOT. — Sur les phénomènes de fragmentation vacuolaire dits d'« aggrégation ». *Arch. Anat. Micr.*, 1929, **25**, 507-518.
29. MASCRÉ (M.). — Recherches sur le développement de l'anthere chez les Solanacées. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 1921.
30. MASCRÉ (M.). — Sur l'étamine des Borraginées. *C. R. Ac. Sc.*, 1922, **175**, 987.
31. MASCRÉ (M.). — Sur l'évolution de l'étamine des Commelinacées. *Soc. Bot. de Fr.*, 1925, **72**, 1060.
32. MASCRÉ (M.). — Sur le périplasmodium staminal des Commelinacées. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **181**, 1165.
33. MASCRÉ (M.). — Sur la fixation du chondriome de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, **185**, 866.
34. MASCRÉ (M.). — Action de quelques fixateurs sur le noyau de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, **185**, 1505.
35. MASCRÉ (M.). — Sur le tapis staminal et le grain de pollen de l'*Arum maculatum* L.. *C. R. Ac. Sc.* 1928, **186**, 1642.
36. MEVES. — Ueber das Vorkommen von Mitochondrien bzw. Chondromiten. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, 1904, **22**.
37. MILOVIDOV. — Observations vitales sur l'altération du chondriome chez le *Saprolegnia* sous l'influence de divers facteurs externes. *Rev. gén. Bot.*, 1929, **41**, 193.
38. NEGELI (C.). — Zur Entwicklungsgeschichte des Pollens. *Zurich*, 1842.
39. NICOLOSI-RONCATI. — Formazioni mitochondriali degli elementi sessuali dell' *Helleborus foetidus*. *Rend. R. Acc. di Sc. fis. e nat. di Napoli*, 1910.
40. NOEL et MANGENOT. — Le formol, fixateur nucléaire. *C. R. Soc. biol.*, 1922, **87**, 1131.
41. PY (G.). — Sur l'évolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen d'*Helleborus foetidus*. *C. R. Soc. biol.*, 1929, **101**, 919.

42. PY (G.). — Recherches cytologiques sur l'assise nourricière des grains de pollen d'*Helleborus foetidus*, *Euphorbia Sauliana* et *E. Peplus*. *C.R. Ac. Sc.*, 1929, 189, 1298.
43. PY (G.). — Sur l'évolution des constituants cytoplasmiques pendant la formation des grains de pollen et de l'assise nourricière chez *Senecio vulgaris*. *C. R. Ac. Sc.*, 1930, 190, 888.
44. ROSENBERG. — Ueber die Pollenbildung von *Zostera*. *Meddel. Stockholms, Högsk. Bot. Inst.*, 1901.
45. SCHNARF (K.). — Ueber das Verhalten des Antherentapetums einiger Pflanzen. *Oester. Bot. Zeitsch.*, 1923, 72, 242-245.
46. SEUSSENGUTH (K.). — Bemerkungen zur meiotischen und somatischen Kernteilung bei einigen Monocotylen. *Flora N. F.*, 1921, 14.
47. SHATTUCK. — Morphology of *Ulmus americana*. *Bot. Gaz.*, 1905, 40, 209.
48. SHREVE. — Développement et anatomie du *Sarracenia purpurea*. *Bot. Gaz.*, 1906, 42, 2, 107.
49. TISCHLER (G.). — Ueber die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei *Ribes*-Hybriden. *Jahrb. für wissenschaft. Botanik (Pringsheim)*, 1905-1906, 42.
50. TISCHLER (G.). — Ueber die Entwicklung der Sexualorgane bei einem sterilen *Bryonia* Bastard. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, 1906.
51. TISCHLER (G.). — Die Periplasmodiumbildung in den Antheren der Commelinaceen und Ausblicke auf das Verhalten der Tapetenzellen bei den übrigen Monokotylen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1915, 55, 53.
52. WAGNER. — Evolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen chez les Angiospermes. *Biologia generalis*, 1927, Band 3, 15.
53. WAGNER. — Sur la formation « de novo » des chondriosomes dans le cytoplasme des cellules mères des grains de pollen chez les Angiospermes. *Biologia generalis*, 1927, Band 3, 329.
54. WARMING (E.). — Untersuchungen über pollenbildende Phyllode und Kaulome. *Hanstein's Bot. Abhandl.*, 1873, 2, 190.

55. WEBB. — Morphologic. Study of the flower and embryo of *Spirœa*. *Bot. Gaz.*, 1902, **33**, 151.
56. WIEGAND. — The development of microsporangia and microspores in *Convallaria* and *Potamogeton*. *Botan. Gaz.*, 1899, **28**, 328.
57. WYLIE — The morphology of *Elodea canadensis*. *Botan. Gaz.*, 1904, **37**, 1.
58. ZWEIBAUM. — Sur la coloration des graisses dans la cellule vivante. *C. R. S. Bio.*, 1923, **89**, 254.
59. ZWEIBAUM et MANGENOT. — Application à l'étude histochimique des végétaux d'une méthode permettant la coloration vitale et postvitale des graisses de la cellule animale. *C. R. S. Bio.*, 1923, **89**, 540.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,
P. GUÉRIN.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,
M. RADAÏS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris
S. CHARLÉTY.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
Introduction.....	1
Chapitre premier :	
Technique	5
Chapitre II :	
<i>Hemerocallis flava</i> L.....	9
<i>Aquilegia vulgaris</i> L.	30
<i>Digitalis purpurea</i> L.	35
<i>Campanula Rapunculus</i> L.....	41
<i>Bryonia dioica</i> Jacq	52
<i>Asparagus officinalis</i> L., <i>Saponaria officinalis</i> L., <i>Primula officinalis</i> L.....	60
Chapitre III :	
Evolution des cellules nourricières	63
Evolution des éléments polliniques.	82
Chapitre IV .	
Conclusions générales.....	85
Index bibliographique.....	89

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
